UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-1947 – N° 122

CONTRIBUTION à l'ETUDE des COMPOSANTS

de la

PROTHROMBINE

dans le Cadre de la Théorie enzymatique de la Coagulation

EXPÉRIMENTATION ET APPLICATIONS CLINIQUES

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

Directeur : Docteur SERVANTIE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 21 Juillet 1947

PAR

Jean-François DUPLAN

Né à PARIS (Seine), le 28 Octobre 1921

Préparateur au Laboratoire de Médecine Coloniale – Diplômé de Médecine Coloniale

Examinateurs de la Thèse

MM. BONNIN, professeur ... Président
FABRE, Professeur ... Juges
TAYEAU, agrégé ... Juges
TRAISSAC, agrégé ... Juges

SAINTES

Imprimerie René DELAVAUD, 73, Cours National

1947

DUPLAN JEAN-FRANÇOIS

Contribution à l'étude des composants de la Prothrombine dans le cadre de la Théorie Enzymatique de la coagulation.

Expérimentation et applications cliniques

Thèse Médecine Bordeaux 1947, n° 122
(100 pages)

DELAVAUD, Imprimeur - SAINTES
(Charente-Maritime)

DUPLAN JEAN-FRANÇOIS

Contribution à l'étude des composants de la Prothrombine dans le cadre de la Théorie Enzymatique de la coagulation.

Expérimentation et applications cliniques

Thèse Médecine Bordeaux 1947, n° 122
(100 pages)

DELAVAUD, Imprimeur - SAINTES
(Charente-Maritime)

DUPLAN JEAN-FRANÇOIS

Contribution à l'étude des composants de la Prothrombine dans le cadre de la Théorie Enzymatique de la coagulation.

Expérimentation et applications cliniques

Thèse Médecine Bordeaux 1947, n° 122
(100 pages)

DELAVAUD, Imprimeur - SAINTES
(Charente-Maritime)

DUPLAN JEAN-FRANÇOIS

Contribution à l'étude des composants de la Prothrombine dans le cadre de la Théorie Enzymatique de la coagulation.

Expérimentation et applications cliniques

Thèse Médecine Bordeaux 1947, n° 122
(100 pages)

DELAVAUD, Imprimeur - SAINTES
(Charente-Maritime)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536508_0077

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-1947 – N° 122

CONTRIBUTION à l'ETUDE des COMPOSANTS

de la

PROTHROMBINE

dans le Cadre de la Théorie enzymatique de la Coagulation

EXPÉRIMENTATION ET APPLICATIONS CLINIQUES

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

Directeur : Docteur SERVANTIE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 21 Juillet 1947

PAR

Jean-François DUPLAN

Né à PARIS (Seine), le 28 Octobre 1921

Préparateur au Laboratoire de Médecine Coloniale – Diplômé de Médecine Coloniale

Examinateurs de la Thèse

MM. BONNIN, professeur ... Président
FABRE, Professeur .....
TAYEAU, agrégé ..... Juges
TRAISSAC, agrégé ....

SAINTES
Imprimerie René DELAVAUD, 73, Cours National

1947

FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de BORDEAUX

Doyen ..... M. DUPÉRIÉ
Assesseur ..... M. LABAT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ANDÉRODIAS
ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES LEURET, PERY

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	CREYX	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
id.	DUPÉRIÉ	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LOUBAT
Clinique chirurgicale et gynécologique	CHARRIER	Clinique des maladies infectieuses	DAMADE
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Chimie biologique et médicale	MACHEBŒUF
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE	Physique médicale et pharmaceutique	N.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY	Médecine coloniale et clinique des maladies exotiques	BONNIN
Anatomie	VILLEMIN	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL	Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Hygiène	PIÉCHAUD	Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Médecine légale et déontolog.	DERVILLÉE	Clinique d'oto-rhino-laryngol.	PORTMANN
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	N.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT
Chimie	CHELLE	Hydrologie thérapeutique et climatologie	N.
Botanique et matière médicale	GOLSE	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Pharmacie	VITTE		
Physiologie	FABRE		
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN		
Zoologie et parasitologie	SIGALAS		
Médecine expérimentale	AUBERTIN		

MM. PERRENS (Maladies mentales), FAUGÈRE (Obstétrique)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUFOUR	Obstétrique	N.
Histologie	BROUSSY	id.	MAHON
Physiologie	N.	Ophtalmologie	BESSIÈRES
Médecine générale	BROUSTET	Oto-Rhino-Laryngologie	DESPONS
id.	SARIC	Dermatologie et syphiligraphie	LECOULANT
id.	DUBARRY	Chimie médicale	TAYEAU
id.	J. F. TRAISSAC	Physique médicale	REBOUL
id.	N.	Chimie générale pharmaceutique et toxicologie	CASTAGNOU
id.	N.	Histoire naturelle pharmaceut.	GIRARD
Chirurgie générale	N.	Pharmacie	MESNARD
id.	MASSÉ	id.	N.
id.	MAGENDIE	Histoire naturelle médicale et parasitologie	N.
id.	POUYANNE		
id.	LAUMONNIER		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	MASSÉ	Cryptogamie	GIRARD
Accouchements	FAUGÈRE	Pharmacie galénique	MESNARD
Puériculture	PERY	Bactériologie	MOUREAU
Zoologie et parasitologie	N.	Physiologie	Mlle ROUGIER
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI	Chimie biologique	TAYEAU
Ophtalmologie	N.	Parasitologie, biologie appliq.	PAUTRIZEL
Anatomie	RIGAUD	Pathologie chirurgicale	LAUMONIER
Chimie minérale	CASTAGNOU	id.	VILLAR
Botanique	GIRARD.	Electro-radiologie	CAILLON

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA MÈRE

Je dédie ce travail, faible témoignage d'une profonde affection et d'une grande reconnaissance.

A MON PÈRE, LE DOCTEUR DUPLAN

A MA FEMME

En gage de mon immense tendresse.

A MES BEAUX-PARENTS

En remerciement pour leur affectueuse sollicitude.

AUX MIENS ET A MES AMIS

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL
DE DEUXIÈME CLASSE GALIACY

Directeur de l'Ecole principale du Service de Santé
de la Marine et des Troupes coloniales
Commandeur de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF
DE DEUXIÈME CLASSE BOURRET

Sous-Directeur de l'Ecole principale du service de santé
de la Marine et des Troupes coloniales
Officier de la Légion d'Honneur
Commandeur du Nicham-Iftikar
Officier du Ouissan-Alaouite

A NOS PROFESSEURS DE L'ECOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE
ET DES TROUPES COLONIALES

A MONSIEUR LE DOCTEUR SERVANTIE

Biologiste des Hôpitaux

Directeur du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André

Chevalier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre

Qui pendant deux ans nous a initié à la biologie, et nous a dirigé dans notre travail, qu'il trouve ici l'expression de notre admiration et de notre reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ TRAISSAC

Médecin des Hôpitaux

A qui nous exprimons notre reconnaissance pour l'intérêt qu'il a pris à notre travail.

A NOTRE JURY DE THÈSE

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. BONNIN

Professeur de Médecine coloniale
et Clinique des Maladies exotiques
Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Instruction publique
Croix de Guerre

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'enseignement qu'il nous a donné aux cours spéciaux de Médecine Coloniale, et qu'il veuille bien accepter l'expression de notre gratitude pour nous avoir permis de compléter nos connaissances, en nous admettant comme préparateur dans son laboratoire.

AVANT-PROPOS

Ayant assisté à l'élaboration de la thèse de notre camarade Salles sur la mesure du taux de prothrombine, nous avons désiré continuer et compléter d'un point de vue théorique les recherches qu'il avait entreprises.

Sous la direction du Docteur Servantie nous avons repris les données de Quick sur la composition de la prothrombine. Aidé par les connaissances biologiques du Docteur Servantie ainsi que par la documentation qu'il à mis à notre disposition nous avons pu mener à bien ce travail.

Nous voulons exprimer notre très vive reconnaissance à Monsieur le Professeur H. Bonnin qui nous a permis de bénéficier de son enseignement pratique en nous acceptant comme préparateur dans son laboratoire de la Faculté de Médecine.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur le Pharmacien Principal Babin pour l'aide qu'il nous a apportée dans nos recherches et pour nous avoir permis de venir travailler dans son laboratoire de l'Ecole de Santé Navale. Nous remercions aussi Mademoiselle D. Quivy qui, par l'intermédiaire du Docteur Servantie, a bien voulu nous faire parvenir le tirage à part de ses travaux.

Nous exprimons toute notre gratitude à Monsieur le Médecin de Première Classe Moretti pour l'amitié dont il a bien voulu nous honorer.

Que Sœur Anne-Marie trouve ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour tout ce qu'elle nous a enseigné pendant les deux années que nous avons passées au Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André.

Enfin nous remercions tous nos camarades des Hôpitaux et de la Faculté qui nous ont souvent aidé dans notre travail.

INTRODUCTION

Il est difficile de dissocier l'étude de la prothrombine de celle de la coagulation du sang ; la prothrombine n'est qu'un des maillons de la longue chaîne qui aboutit à la formation du caillot. Il est quasi impossible d'étudier un élément de cette chaîne sans la connaître toute.

A l'heure actuelle deux théories s'affrontent : l'une perd peu à peu du terrain, c'est la théorie non fermentaire de la coagulation ; l'autre, la théorie fermentaire, réunit des adeptes de plus en plus nombreux ; elle permet d'expliquer de nombreuses constatations cliniques et chaque jour quelque fait nouveau vient la confirmer.

Dans la théorie non fermentaire, la prothrombine est transformée en thrombine par la thromboplastine qui joue un rôle de catalysateur. Puis la thrombine catalyse à son tour la dénaturation du fibrinogène. Sur ce processus fondamental interviennent une série de corps dont les propriétés et le rôle sont assez mal définis.

La valeur et l'utilité des recherches anciennes ne sont pas négligeables, ce sont elles qui ont permis à la théorie enzymatique de se faire jour ; mais les explications modernes de la coagulation, à peine plus complexes que les anciennes, semblent plus près de la réalité chimique et biologique.

Nous exposerons tout d'abord les théories fermentaires de la coagulation, dont nous ferons une synthèse.

Nous étudierons ensuite les méthodes de mesure de la prothrombine, puis la composition de ce corps, formé par deux facteurs A et B, et les variations de ces facteurs dans la pathologie.

Enfin nous résumerons les résultats des recherches que nous avons commencées sur la coagulation par la trypsine et l'utilisation de la protéolyse trypsique dans la mesure de la prothrombinémie.

Nous avons essayé de donner une bibliographie assez complète, malheureusement nous n'avons pu nous procurer certains articles, même en microfilms.

CHAPITRE I

Etude des Théories modernes de la Coagulation Enzymatique

Ce n'est pas dans les quelques pages que nous voulons consacrer à ce sujet que nous pourrons faire une étude détaillée d'un phénomène aussi complexe que la coagulation sanguine. Nous voulons simplement donner, au début de ce travail, une idée générale de l'orientation actuelle des recherches et exposer rapidement les théories modernes qui cherchent à expliquer le mécanisme de formation du caillot.

Depuis l'abandon presque complet des théories non fermentaires, la coagulation est classiquement divisée en trois temps :

— Le premier préside à la formation de la thrombine ;

— Le second voit le fibrinogène se transformer en fibrine ;

— Le troisième est celui de la rétraction et de la redissolution du caillot.

Un schéma simple et classique donne la représentation de ces diverses transformations :

Prothrombine + Calcium + Activateur —» Thrombine.

Thrombine + Fibrinogène —» Profibrines, puis Fribrine (caillot).

$$\text{Caillot} + \begin{cases} \text{Plaquettes} \text{ —» Rétraction.} \\ \text{Ferments} \text{ —» Fribrinolyse} \end{cases}$$

Nous allons étudier chacun de ces temps et les différents facteurs mis en jeu, ainsi que le mécanisme de ces diverses réactions. Cette étude portera surtout sur la première phase de la coagulation qui est la plus complexe et qui fait l'objet de ce travail.

PREMIER TEMPS DE LA COAGULATION

C'est de beaucoup le plus difficile à étudier à cause, non seulement de la complexité de son mécanisme, mais encore de la diversité des corps qui sont en présence. Ne voulant considérer que les principaux facteurs qui entrent en jeu, nous étudierons :

— La prothrombine,

— L'activateur,

— Le calcium.

a) La Prothrombine :

Mal définie chimiquement, on la considère comme une globuline. Seegers (114-115-116) en a donné la formule brute approximative et Cohn (26-27) l'a trouvée dans sa fraction III, avec les $\frac{1}{3}$ globulines et les iso-hémo-aglutinines ; elle forme ainsi la sous-fraction III,2.

Dans le plasma, la prothrombine se révèle comme un complexe de deux corps que Quick (104-105) identifie de la manière suivante :

— *Facteur A :* labile, qui disparait dans le sang conservé, le chauffage à 56° pendant 30 minutes le détruit ; il est difficilement adsorbé (105) ;

— *Facteur B :* très peu labile, résistant à la conservation mais adsorbable par l'hydroxyde d'alumine et de nombreux autres adsorbants en milieu oxalaté. Son taux est variable in vivo et sa diminution serait responsable des hypoprothrombinémies (104).

Nolf (88) et Feissly (43) semblent retrouver ces mêmes constituants, mais les interprétations sont divergentes ; alors que Quick appelle prothrombine un complexe A-B, pour Frédéricq (55) seul, le composant B, représente la prothrombine et le corps A serait un ferment à propriétés particulières, véritable activateur de la prothrombine. Enfin, Seegers (115), après des purifications très poussées, considère que la prothrombine est un corps simple. Crut (30), dans un récent article, montre, avec juste raison, que dans le courant de la purification, Seegers entraîne probablement, en plus du facteur A (qui, pour lui, serait la véritable prothrombine), une très faible partie du facteur B, ce qui lui permettrait d'avoir un corps apte à coaguler le fibrinogène après adjonction de calcium, donc de la prothrombine ;

b) L'Activateur :

C'est certainement un des points les plus controversés que celui qui a trait à l'activateur grâce auquel la prothombine se transforme en thrombine. On lui a donné les noms les plus divers : cytozyme, thrombokinine, thrombokinase, nous l'appellerons *thromboplastine,* terme qui s'est généralisé sous l'influence américaine.

Pendant longtemps, on a considéré que les extraits de tissus ou d'organes étaient les activateurs physiologiques du premiers temps de la coagulation. Les plaquettes et les leucocytes, eux aussi, seraient aptes à libérer une thromboplastine active.

Le premier pas important a été fait lorsqu'on a distingué dans ces extraits : un lipoïde, la céphaline et des protéines. On a d'abord attribué le rôle actif à la céphaline, mais sa purification (53) diminue son pouvoir coagulant ; par contre, l'extrait tissulaire total est très actif in-vivo comme in-vitro (57-21-22), alors que les produits privés de lipoïdes semblent devenir complètement inactifs (12).

C'est alors que sont apparues de nouvelles théories rejetant, non l'activité, mais la spécificité des solutions obtenues à partie des plaquettes, des leucocytes et des tissus. Collinwood et Mac Mahon (28) avaient entrevu cette idée qui possède actuellement de nombreux défenseurs. Leggenhager, entre autres, affirme l'existence d'une thromboplastine plasmatique *(thrombokinine)* (71) et dénie tout rôle effectif aux éléments figurés dans le premier temps de la coagulation (72). Nolf (90-91) retrouve de même un activateur plasmatique appelé *tryptase,* qui serait analogue à une substance contenue dans la *proteine visqueuse* de Feissly (41-44-45). Il semble qu'on pourrait rapprocher de ces corps la globuline extraite par Pateck (98) et celle trouvée par Winderbauer et Reichel (130).

La plupart des produits ainsi isolés semblent tous avoir non seulement un pouvoir coagulant, mais aussi un pouvoir protéolytique qui ne serait pas lié à des impuretés. Feissly (41) aurait pu séparer les propriétés thromboplastiques des propriétés protéolytiques.

Toute les divergences qu'on rencontre dans les caractères des produits isolés, proviennent, semble-t-il, des méthodes d'isolement qui entraînent des impuretés ; celles-ci différant avec le mode de préparation.

Un fait nous paraît actuellement certain, c'est qu'il faut distinguer deux activateurs :

L'un, plamastique, du type tryptase, contient un agent thromboplastique thermolabile, peu adsorbable, extractible par le chloroforme (54-41).

L'autre, tissulaire, thermostable, serait un activateur lipoïdique. La libération d'un corps de ce type par les plaquettes a été mis encore récemment en évidence par Tzanck et Burstein (125).

Une évidente analogie apparaît entre les propriétés du facteur A. de Quick et cet activateur plasmatique thermolabile ; elle a donné lieu à une très ingénieuse théorie, soutenue par P. Frédéricq, que nous étudierons avec le mécanisme d'action des facteurs du premier temps de la coagulation.

c) Le Calcium :

Dans les conditions physiologiques normales, le calcium est absolument nécessaire à la coagulation. Il faut, toutefois, signaler que le Strontium peut permettre de transformer 80 % de la prothrombine en thrombine. Seul, interviendrait le *calcium combiné* du plasma ; ce fait, souligné encore récemment par Quick (108), présente un très grand intérêt, car il permet de dénier toute valeur à un dosage de prothrombine qui ne serait pas effectué sur un plasma préalablement décalcifié, la recalcification devant se faire, par la suite, dans des proportions étroitement définies (Quick ibid.)

Pour plusieurs raisons, on peut penser que le calcium intervient en unissant les deux composants A. et B. En effet :

— Dans un plasma décalcifié, le composant B. est plus facilement adsorbable que dans un plasma hépariné ;

— Un plasma de poulet ou d'oie, spontanément incoagulable, ne voit son temps de Quick augmenter par diminution du composant A. que s'il est décalcifié ; le même fait est constaté avec un plasma d'hémophile (81).

Le mécanisme physiolologique de la coagulation n'est d'ailleurs pas seul à bénéficier de la présence du calcium ; il est, à ce point de vue, très instructif de construire un rapide parrallèle avec d'autres processus entraînant une coagulation artificielle : le venin de *Vipera russellii* ne serait actif qu'en présence de calcium (5) ou du moins, en l'ab-

sence de calcium, les concentrations de venin nécessaires seraient très élevées. De même, la trypsine voit son activité augmenter très nettement au milieu calcifié (31-35).

Ce fait, que de nombreux corps à propriétés thromboplastiques voient croître leur activité en présence de calcium, sans toutefois que celui-ci soit indispensable aux fortes concentrations, a permis de croire que la tryptase plasmatique pourrait être active dans les mêmes conditions.

Nous sommes maintenant à même, connaissant les principaux éléments du problème, d'étudier le mécanisme du premier temps de la coagulation.

d) Mécanisme de la Formation de la Thrombine :

Tout semble prouver qu'il existe, dans la coagulation du sang, un processus autocatalytique. Arthus (6) et Nolf (92) avaient déjà pressenti l'existence de cette forme de réaction. Utilisant les techniques d'Arthus et de Bordet et Gengou (23), Astrup (10-11) affirme que ni la transformation de la prothrombine en thrombine, ni celle du fibrinogène en fibrine, ne sont responsables du processus autocatalytique. Pourtant, employant une méthode très différente, Y. Bertrand et D. Quivy (15-16-17) mettent, eux aussi, en évidence, l'allure autocatalytique de la coagulation. On est donc amené à penser, avec Astrup (11), Feissly (42) et Laki (68), que l'autocatalyse se trouve dans l'activation d'une *protryptase inactive* en tryptase active. Les lipoïdes joueraient, ici, le rôle d'activateurs, en même temps que les actions de contact.

Le calcium serait indispensable, non à l'activation de la prothrombine, comme le pense Quick, (10), mais à l'activation de la tryptase comme le montre Ferranti (50) et on aurait l'équation :

$$\frac{\text{Tryptase} \;--\; \times\; \text{Ca} \;++}{\text{Trytase Ca}} = \text{K}$$

Quelle va être l'action de la tryptase sur la prothrombine? Certains faits permettent de répondre à cette question.

Comme beaucoup d'activateurs de la prothrombine, la tryptase a une action protéolytique; d'autre part, Astrup et Darling (7-8-9) montrent que la prothrombine, globuline,

se transforme en thrombine, albumine de molécule beaucoup plus petite. Il y a donc un clivage protéolytique de la molécule prothrombine en une ou plusieurs molécules de thrombine. Cette opinion tend, de plus en plus, à être adoptée et Ferguson (46) l'a encore récemment défendue.

Le schéma du premier temps doit donc, à notre avis, se présenter de la manière suivante :

PROTRYPTASE + LIPOÏDES

↓

TRYPTASE + CA + PROTHROMBINE

↓

THROMBINE

Soit en réalité deux temps qui, pensons-nous, mériteraient d'être séparés, non seulement parce que la cinétique des réactions y est différente, mais encore parce que les facteurs plasmatiques anticoagulants agissent probablement électivement sur l'un ou sur l'autre.

Le fait que la décalcification préalable ne permet plus de retrouver la réaction autocatalytique (10), donnerait à penser que celle-ci a bien lieu lors de la transformation de la protryptase en tryptase, en l'absence de calcium ainsi que nous le représentons ci-dessus.

DEUXIEME TEMPS DE LA COAGULATION

Nous ferons une étude rapide des différents facteurs entrant en combinaison, c'est-à-dire thrombine et fibrinogène et nous verrons succinctement par quel mécanisme s'obtient la fibrine, élément fondamental du caillot.

a) LA THROMBINE :

Extrêmement difficile à isoler (84) à l'état pur, la thrombine est encore mal définie chimiquement. Toutefois, d'après des travaux récents de Nyons, il semblerait qu'on retrouve la vitamine K dans sa constitution. Cette vitamine K serait apportée par le facteur B. de la prothrombine. Seegers ne l'aurait pas trouvé dans celle-ci, car il n'aurait isolé que le constituant A. Wöhlish (136) pense, avec juste raison, que c'est un enzyme. Celui-ci posséderait deux grandes propriétés : l'une, coagulante, l'autre, fibrinolytique. Hudemann (62) a réussi à séparer les deux

actions, en chauffant la thrombine, 30 minutes à 56°, inhibant ainsi en grande partie la fraction coagulante sans altérer le pouvoir protéolytique. Enfin, la thrombine ne traverse pas les ultra-filtres imperméables aux protéines (67). La thrombine, comme la plupart des enzymes, ne disparaît pas après avoir réagi et reste dans le sérum, mais s'y transforme assez rapidement en *métathrombine* inactive. Par contre, sa conservation à l'état sec est à peu près indéfinie.

Nous pouvons, dès maintenant, considérer que la thrombine va avoir deux actions : l'une coagulante s'exerce sur le fibrinogène, l'autre, protéolytique, agira sur la fibrine dans certaines conditions. Mais il est généralement admis, depuis les travaux de Bordet (19), que la thrombine agit aussi directement sur la prothrombine pour la transformer en thrombine sans intervention de l'activateur qui a pu amener la première transformation en thrombine, suivant le schéma :

(1) Prothrombine + Activateur —» Thrombine
(2) Thrombine + Prothrombine —» Thrombine

Cette réaction (2), retrouvée par Mellenby (80, Leggenhager (73), a été considérée par Astrup (12) comme la réaction à laquelle la coagulation devait son apparance autocatalytique. Il devait, par la suite, revenir sur cette première conclusion. Plus récemment, Tzanck et Burstein (125) ont également montré que la thrombine accélérait la coagulation du plasma, en donnant lieu à une néoformation de thrombine.

b) Le Fibronogène :

Sa molécule est la plus volumineuse des protéines plasmatiques ; de grande viscosité, elle donne le phénomène de double réfraction. Cohn précipite le fibrinogène dans sa fraction I. La mobilité électrophorétique de ce dernier est intermédiaire entre celle des β et γ globulines. Il se conserve très longtemps sous forme sèche. Wöhlish (134-136) assigne au fibrinogène deux propriétés principales :

— Tendance à la dénaturation spontanée en donnant de la fibrine ;

— Sensibilité de cette dénaturation aux influences catalytiques.

Nous verrons quelles conclusions il faut tirer de cette propriété, en étudiant le mécanisme de formation de la fibrine.

Il nous faut ajouter quelques mots sur les *profibrines* étudiées par Apitz (2-3-4), qui représentent une série de corps intermédiaires apparaissant au cours de la dénaturation du fibrinogène.

c) Mécanisme du Deuxième Temps de la Coagulation :

Ce mécanisme est beaucoup moins complexe que celui du premier temps ; toutefois, l'action de la thrombine n'est pas encore parfaitement élucidée et demande à être étudiée d'assez près.

Quick a montré que, d'une manière générale, la relation entre le temps de coagulation du fibrinogène et la concentration en thrombine du milieu, répondait à la formule :

$$t = K \frac{1}{y}$$

où y = concentration en thrombine.

k dépend du degré de dissociation de l'électrolyte dans le milieu et croît avec l'augmentation du milieu en sel neutre.

G. Crut (29) énonce de plus les deux règles suivantes : « Le temps de coagulation diminue quand le poids atomique « du métal augmente».

« Le temps de coagulation du fibrinogène par la throm- « bine diminue avec l'augmentation de la concentration en « fluorures alcalins».

De Mommaerts (85) arrive aux mêmes conclusions et les généralise.

La thrombine, ainsi qu'Eagle l'a montré (36), semble bien agir comme un enzyme. Mais agit-elle par action protéolytique ou par son pouvoir coagulant qui, nous l'avons vu, sont distincts ? Wohlish (134-136) en fait une fibrinogènedénaturase, simple catalysateur de la dénaturation du fibrinogène. Nolf (89-89 bis) vient de montrer que le pouvoir protéolytique de la thrombine était inhibé par de nombreuses globulines plasmatiques, au profit de son pouvoir coagulant ; en effet, d'une part la concentration en ions H du milieu reste constante pendant la coagulation du fibrinogène

par la thrombine (38) et d'autre part, Jacques (63) a montré qu'à 10 p. 100 près tout l'azote du fibrinogène se retrouvait dans la fibrine.

Nyons (94) donne du deuxième temps de la coagulation un mécanisme différent qui fait intervenir les radicaux thiols du fibrinogène :

Fibrinogène-S + Thrombine A ——» Fibrinogène-SH + Thrombine,

Fibrinogène-SH + Thrombine B ——» Fibrine-SS,

suivant le mécanisme habituel aux protéines contenant le radical SH (glutathion, cystéine). D'autre part, dans la prothrombine B, le groupement prosthétique serait représenté par la vitamine K. Le fibrinogène-SH équivaudrait à la profibrine.

En attendant la confirmation de la théorie de Nyons qui fait appel à des réactions assez particulières mais très plausibles, il semble que, pour expliquer la transformation du fibrinogène en fibrine, on puisse se rallier à une opinion moyenne, défendue entre autre par Oppenheimer (96), à savoir que la dénaturation du fibrinogène relève de l'hydrolyse d'une seule liaison, encore inconnue, de la molécule. De plus, un fait reste indiscutable : c'est la présence nécessaire de globulines plasmatiques comme facteurs inhibant la fibrinolyse.

TROISIEME TEMPS DE LA COAGULATION

C'est pour nous de beaucoup le temps le moins important ; aussi, nous contenterons-nous de faire une étude sommaire de la fibrine, de la rétraction du caillot et de la fibrinolyse.

a) La Fibrine :

La fibrine est une protéine dénaturée dont elle présente :

— L'étalement en surface (77) ;
— La réaction au nitroprussiate (34).

La fibrine obtenue au cours de la coagulation par la thrombine est exactement comparable à celle obtenue par action de la chaleur (137).

b) Retraction du caillot :

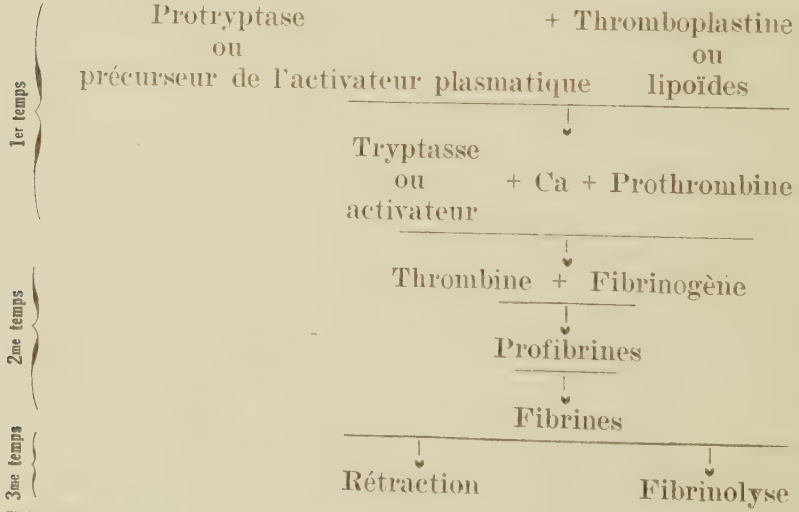
La rétraction du caillot serait un phénomène dû essentiellement aux plaquettes ainsi que l'avait montré Hayem, Plagniez et Le Sourd. Les plaquettes doivent, pour agir, être en nombre suffisant et avoir une activité fonctionnelle normale (59).

c) Redissolution du caillot :

La redissolution du caillot, si le sang est recueilli et conservé aseptiquement, doit se produire au bout de 4 à 5 jours (101). Les principaux facteurs de cette redissolution semblent être la tryptase plasmatique (46), la thrombine (61-63-137-101) et d'autres enzymes à pouvoir protéolytique (138-112).

Conclusions :

Nous sommes maintenant à même de reprendre la théorie classique de la coagulation et nous pensons qu'il est avantageux de modifier la partie du schéma se rapportant à la première phase, pour mettre en évidence la présence du coactivateur lipoïdique qui semble y jouer un rôle très important. Nos pensons donc que la représentation qui convient le mieux aux faits expérimentaux peut se schématiser de la manière suivante (*) :



(*) Nous réservons le terme de thromboplastine à l'activateur lipoïdique et celui de thrombokinase (Leggenhager) ou de tryptase (Nolf), à l'activateur plasmatique thermolabile.

Nous pensons que le mécanisme ainsi exposé présente l'avantage de corroborer certaines théories sur l'hémophilie. Celles-ci, en effet, tendent à attribuer cette dyscrasie sanguine à un trouble qualificatif et quantitatif de l'activateur de la prothrombine (44-97-98), que ce trouble soit primitif ou secondaire à l'action inhibitrice de certaines albumines (123-124).

Dans ce chapitre, qui n'est qu'une compilation souvent fastidieuse, nous avons volontairement omis un certain nombre de points. Nous n'avons pas voulu, entre autre, aborder le problème des anticoagulants, extrêmement complexe, et qui commence à peine à être élucidé. Leur étude, même très sommaire, nous aurait entraîné fort loin. Nous avons aussi volontairement passé sous silence les résultats donnés par certains procédés d'investigation : étude photographique de la coagulation (24), étude thrombographique (74-75 81-82-83). Bien qu'ils aient permis de mettre en valeur un certain nombre de phénomènes, leur exposition relèverait plus d'un recueil de techniques que d'une revue d'ensemble.

L'étude que nous venons de faire des théories modernes de la coagulation montre qu'on a de plus en plus tendance à considérer que la formation du caillot est le résultat d'une fermentation d'un type spécial.

Ces théories permettent de séparer la coagulation en deux grandes périodes (126).

Dans le premier temps, une série d'activations à partir d'une proptryptase, transformée en tryptase, qui, réagissant sur la prothrombine, permet d'obtenir une thrombine active.

Dans un deuxième temps, cette thrombine transforme le fibrinogène en fibrine.

La coagulation ainsi réalisée doit être considérée comme le temps préparatoire de la fibrinolyse.

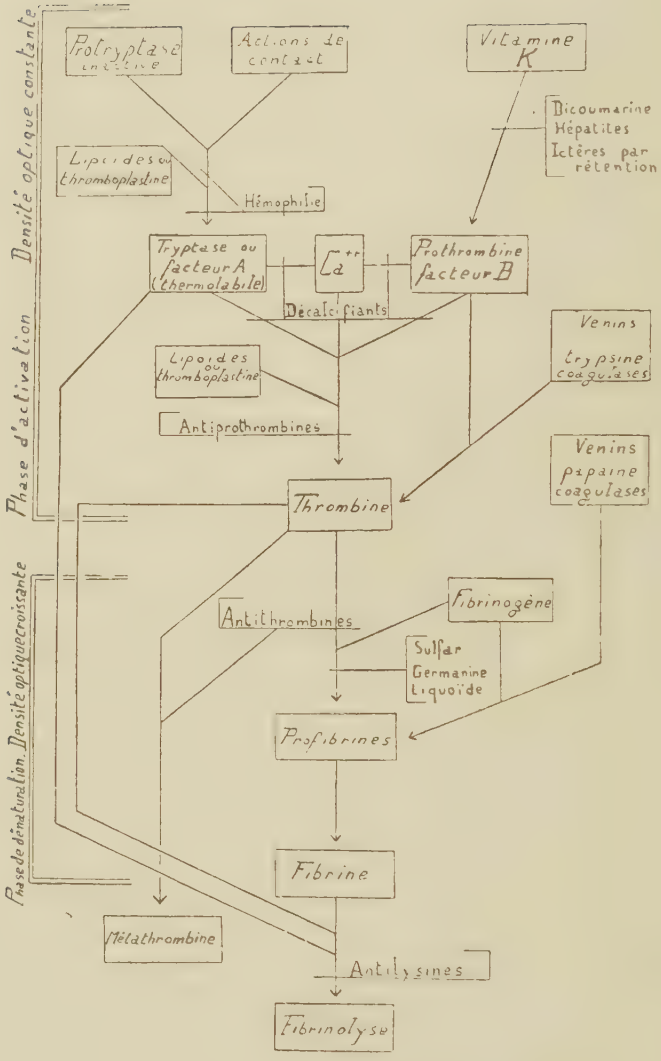


FIG. 1 : *Schéma de la coagulation enzymatique.*

Dans la partie gauche du schéma, deux accolades montrent les deux temps de la coagulation, facilement discernés par l'étude thrombographique qui met en évidence les variations de la densité optique du plasma.

CHAPITRE II

Le Dosage de la Prothrombine Plasmatique

Ce chapitre sera consacré à un exposé critique des méthodes de dosage de la prothrombine. Nous étudierons plus particulièrement la méthode de Quick que nous avons utilisée presque uniquement pour réaliser ce travail. Nous renvoyons donc, pour une étude générale, aux thèses de J.-P. Soulier (119), de H. Salles (113), ou aux articles de H. Lavergne (69) et de A.-J.Quick (105).

Il existe deux genres de méthodes, les unes simples, destinées à être faites au lit du malade, où le sang est prélevé sans décalcification, les autres, plus ou moins difficiles, sont des méthodes de laboratoire qui nécessitent un plasma décalcifié.

MICROMETHODES SANS DECALCIFICATION :

Dans ces méthodes, nous citerons les deux plus connues : celle de Smith (118) et celle de Soulier (119). Nous ne les étudierons pas plus avant, car Quick (108) vient de montrer que toute méthode, où le dosage n'était pas précédé d'une décalcification était fausse ; en effet, la quantité de calcium optima ne correspond pas à celle du sang. Il est donc nécessaire de recalcifier le plasma dans des proportions étroitement définies.

METHODES AVEC DECALCIFICATION :

Malgré le grand nombre de techniques proposées, il est possible de séparer les diverses méthodes en deux catégories que nous étudierons successivement. Tout d'abord, les méthodes en deux temps qui se caractérisent par une activa-

tion préalable de la prothrombine ; puis, les méthodes en un seul temps où la prothrombine est directement dosée.

a) Méthodes en Deux Temps :

Ces méthodes dérivent toutes de celle mise au point et employée par Warner, Brinkous et Smith (128) ; nous citerons, en dehors de la technique originale, celles de W.K. Rieben (111) et de Jacques (64), qui ont apporté certaines modifications rendant le test plus précis et plus sensible.

Le principe de ces méthodes est que toute la prothrombine se transforme en thrombine et que la vitesse de transformation du fibrinogène en fibrine est proportionnelle à la quantité de thrombine formée. C'est le temps de coagulation du fibrinogène par la thrombine qu'on mesurera ici.

Technique :

On recueille le sang sur oxalate par ponction veineuse. On défibrine par une petite quantité de thrombine.

On fait une dilution du plasma défibriné dans une solution saline à 8,5 p. 1.000, de telle sorte que par adjonction de thromboplastine et de calcium, on obtienne une thrombine capable de coaguler en 15 secondes une solution de fibrinogène standard. On ne devra mettre la solution de thrombine en présence du fibrinogène qu'au bout d'un temps qui varie avec les techniques.

Cette méthode présente d'énormes difficultés de réalisation qui ont empêché son emploi dans la pratique courante. Bien que ne concordant pas toujours avec les méthodes en un temps, elle possède une valeur et une précision incontestables, et permet de distinguer les vitesses d'activation lentes des taux de prothrombine bas.

b) Méthodes en Un Temps :

Le prototype des méthodes en un temps est la méthode de Quick ; son principe est la mesure du temps de coagulation d'un plasma décalcifié puis recalcifié en présence de thromboplastine (suspension activante de cerveau de lapin).

Récemment (1939), Witts et Hobson ont mis au point une technique un peu particulière où l'activateur tissulaire est remplacé par une solution de venin de Vipera Russellii qui a une activité protéolytique nette. Il faut donc distinguer deux types de méthode en un temps suivant les propriétés enzymatiques de l'activateur utilisé.

1) Méthode de Witts (132-133) :

Le sang est décalcifié par l'oxalate et titré le plus tôt possible après le prélèvement.

On fait une dilution de venin telle qu'un plasma normal soit coagulé en dix secondes par adjonction de calcium et de venin. En diluant un plasma normal dans un plasma déprothrombiné par l'alumine et en portant en abcisses les concentrations de prothrombine et en ordonnées les temps de coagulation, on obtient une courbe. On peut alors, par interpolation, déterminer le taux de prothrombine d'un plasma quelconque (voir méthode graphique page 30).

On fait une solution de lécithine à 10 p. 100 dans l'alcool. On mélange cette solution au venin dans certaines proportions, on obtient ainsi, en faisant agir ce mélange sur le plasma, un deuxième temps de coagulation plus court que le premier.

« Lecithin-difference » est le nom donné par Witts et Hobson à l'écart qui existe entre le temps de coagulation par le venin pur et par le venin lécithiné. Nous étudierons dans un prochain chapitre (Chapitre VI), la valeur de ce test.

2) Méthode de Quick (19) :

C'est en date une des plus ancienne méthode de détermination du taux de prothrombine dans le plasma. De nombreuses microméthodes en dérivent et les améliorations diverses qui lui ont été apportées ne se comptent plus. La méthode que nous avons employée est à peu près semblable à la technique originale de Quick. Elle est basée sur le fait que la vitesse de coagulation d'un plasma ne dépend, en première approximation, que de la quantité de prothrombine et d'activateur thermostable. Si le plasma est saturé en activateur (thromboplastine), le temps de coagulation ne dépendra plus que de la quantité de prothrombine plasmatique.

Voici les principaux temps de cette méthode qui va être décrite en détail et discutée dans ce chapitre.

— Prélèvement du sang sur anticoagulant par ponction veineuse.

— Dosage sur le plasma frais :

Dans un tube à hémolyse on met :

Plasma + Thromboplastine + Calcium

L'addition de calcium doit coïncider avec le déclenchement d'un chronographe.

— Dès que le mélange qui est dans le tube est coagulé,

on lit le temps en bloquant le chronographe : c'est le « temps de Quick » du plasma utilisé.

— Etalonnage de la thromboplastine :

On fait une série de dilutions d'un *plasma normal titrant par définition 100 p. 100 de prothrombine* et on mesure le temps de Quick pour chaque concentration. On appelle « temps normal » celui donné par un plasma normal non dilué.

On peut, avec tous les temps ainsi déterminés, dresser une courbe (abcisses : concentration en prothrombine p. 100 : ordonnées : temps en secondes), dite courbe étalon, pour une solution donnée de thromboplastine.

Détermination du taux de prothrombine d'un plasma quelconque.

On mesure le temps de Quick du plasma à doser.

On cherche à quelle abcisse (concentration) correspond le temps (ordonnée) trouvé.

En théorie, *on exprime la prothrombine dosée en pourcentage par rapport à un plasma normal titrant 100 p. 100.* Comme l'erreur sur le pourcentage est plus grande que l'erreur sur le temps et comme les méthodes permettant le calcul du taux de prothrombine p. 100 à partir du temps sont extrêmement nombreuses, nous avons, dans la suite de notre travail, préféré donner le temps de Quick du plasma étudié avec, en regard, le temps normal.

TECHNIQUE :

Prélèvement : On prélève par ponction veineuse 4 cc 5 de sang qu'on mélange immédiatement avec 0,5 cc de solution décalcifiante. Il est préférable de recueillir directement le sang dans un tube à centrifuger, muni d'un trait de jauge à 5 cc et contenant les 0.5 cc de solution décalcifiante. On peut, sans inconvénient, prélever des quantités moindres ou supérieures de sang à conditions de conserver la proportion de 1 p. 9 dans le rapport décalcifiant/sang. Le dosage doit être fait dans les 5 heures qui suivent le prélèvement, le plasma étant conservé en glacière ; nous verrons, en effet, que le taux de prothrombine diminue par conservation, sans qu'il soit possible de prévoir la valeur de cet abaissement.

Matériel :

— Solutions décalcifiantes : oxalate de soude à M/10 (1,34 gr. p. 100), ou citrate de soude à 2,5 p. 100.
— Solutions récalcifiantes : chlorure de calcium à M/40 pour la solution d'oxalate et chlorure de calcium à M/20 pour la solution de citrate.
— Bain-marie thermostatique réglable entre 38 et 40°.
— Tubes à hémolyse calibrés, très propres.

—Deux pipettes terminales graduées en dixièmes de cc. et de 2/10 cc au moins.
— Deux pipettes terminales graduées à 0,5 cc et de 2/10 cc au moins (*).
— Un chronographe gradué en cinquièmes ou dixièmes de seconde.
— Une centrifugeuse (3.000 t/m).
— Solution de thromboplastine :

Poudre de cerveau de lapin.....	0,3 gr.
Sérum physiologique à 9 p. 1.000.....	4,9 cc.
Solution décalcifiante (**)	0,1 cc.

On porte ce mélange au bain-marie à 40° au moins et 45° au plus et on laisse chauffer 10 à 15 minutes en agitant toutes les minutes. On centrifuge 10 minutes à 3.000 t/m. et on prélève la solution opalescente qui surnage. On devra conserver cette solution en glacière et ne prendre à chaque dosage que la quantité nécessaire, car les variations de température diminuent l'activité de la thromboplastine.

Préparation de la poudre de cerveau de lapin : On prélève les cervelles intactes de lapins récemment tués par injection de 20 cc d'air dans la veine marginale de l'oreille. On enlève les méninges et les vaisseaux sanguins. Il ne doit rester aucune trace de sang. Au besoin, on lavera avec un peu de sérum physiologique. On broie alors les cervelles dans le double de leur volume d'acétone anhydre. On filtre sur un linge. On fait ainsi plusieurs passages dans l'acétone, toujours en broyant dans un mortier. On rejette à chaque fois l'acétone utilisé et on exprime la pâte de cervelle. On finit par obtenir une poudre fine, presque blanche qu'on filtre une dernière fois et qu'on sèche à l'étuve ou de préférence dans le vide d'un dessicateur. On peut conserver en tube fermé ou mettre sous azote la poudre dans des ampoules scellées (mettre 0,3 gr. de poudre par ampoule). Il est préférable d'opérer sur 10 cerveaux environ, on réalise ainsi une économie de temps et d'acétone, de plus la valeur thromboplastique de la poudre est beaucoup plus constante. La conservation du produit est d'environ 1 mois et demi en glacière dans l'air et de 6 mois sous azote.

Si nous nous sommes ainsi étendu sur la préparation de la thromboplastine, c'est qu'elle joue un rôle capital dans la détermination du taux de prothrombine par la méthode de Quick. Son activité doit permettre de saturer le plasma en faveur activant hexogène éliminant ainsi l'influence de l'activateur plasmatique d'origine plaquettaire. Quick a déterminé de manière très stricte la quantité de thrombo-

(*) Les pipettes servant au séro-diagnostic de Kline sont utilisables.

(**) On emploiera la même solution que celle qui a servi à décalcifier le sang.

plastine nécessaire et il serait, à notre avis, très dangereux de diminuer cette concentration ; on s'exposerait ainsi à faire intervenir dans le dosage des corps n'ayant aucun rapport avec la prothrombine. Tanturi et Banfi (121) emploient une solution de thromboplastine dix fois moins forte comme concentration que celle préconisée par Quick et obtiennent des temps variant entre 16 et 17 secondes, pour des plasmas humains, mais ils laissent en suspension l'extrait cérébral dans la solution de thromboplastine, substituant ainsi des facteurs de surface, pseudo-activateurs, à l'activateur vrai, nous pensons qu'ils commettent une grave erreur.

Conduite du dosage : Mettre dans le bain-marie à 38° la solution de thromboplastine et la solution de chlorure de calcium, les pipettes respectives plongeant dans chaque tube (pipette au 1/10e cc.) Le sang ayant été centrifugé 5 minutes à 3.000 t/m., prélever le plasma (éviter qu'il y ait une hémolyse au cours des manipulations) et le placer dans le bain-marie avec une des pipettes graduées à 0,05 cc.

Prendre 0,2 cc. de plasma qu'on met dans un tube à hémolyse.

Ajouter 0,2 cc. de solution de thromboplastine. Mélanger.

Prendre alors le chronographe dans une main et la pipette contenant 0,2 cc. de solution récalcifiante dans l'autre (*).

Souffler rapidement le chrorure de calcium dans le tube à hémolyse en évitant la formation de bulles.

Déclancher en même temps le chronographe.

Agiter dans le bain-marie pour mélanger plasma, thromboplastine et chlorure de calcium. Au bout de 10 secondes environ, on sort le tube du bain-marie et on lui fait subit des rotations rapides de 60 à 80° autour d'un axe horizontal.

Lorsque le liquide ne suit plus les déplacements, on arrête le chronographe (**). Le temps lu correspond au « temps de Quick ».

La coagulation étant explosive, un observateur entraîné peut faire une erreur inférieure à une demi-seconde. Il faut, de toute façon, faire deux déterminations pour un même plasma et prendre la moyenne des résultats.

— Méthodes Graphiques pour la détermination du Taux d'un Plasma quelconque : La détermination du taux d'un plasma quelconque peut se faire de manières très diverses.

(*) On peut aussi bien réduire à 0,1 cc. la quantité de chacun des trois produits.

(**) Dans certaines méthodes, les auteurs préfèrent, pour déterminer le temps de coagulation, se baser sur l'apparition du premier filament de fibrine (effet Tyndall, prélèvement avec un fil de platine).

Une des méthodes les plus courantes est d'opérer par comparaison avec une courbe étalon.

Etablissement de la courbe étalon : On admet (la démonstration en a été faite) qu'un sujet en bonne santé a un taux de prothrombine plasmatique égal à 100 p. 100. On prélève donc, suivant la technique habituelle, le sang d'un homme sain (*), son plasma sera le plasma témoin servant à l'étalonnage. Dans ces conditions, le temps de Quick ne dépendra que de l'activité de la thromboplastine.

On fait alors une série de dilutions de ce plasma dans un liquide variable que nous définirons par la suite :

Liquide de dilution en cc....	0	0,05	0,1	0,15	0,175	0,1.875
Plasma en cc.	0,2	0,15	0,1	0.05	0,025	0,0.125
Concentrations obtenues p.100	100	75	50	25	12,5	6,25

On obtient les temps de Quick correspondants. On peut alors, en portant en abcisses les concentrations et en ordonnées les temps en secondes, dresser la courbe d'étalonnage de la solution de thromboplastine (fig. 2).

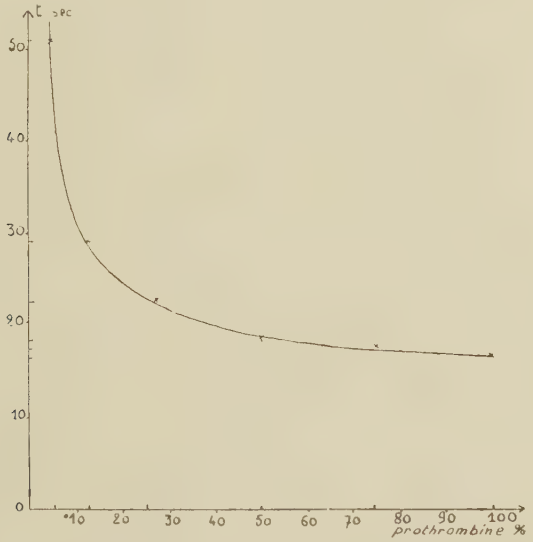


FIG. 2 : *Courbe d'étalonnage. Méthode de Quick*

(*) Nous préférons utiliser un plasma masculin moins sujet aux variations. Chez la femme, les périodes menstruelles, la grossesse, les fibromes mêmes peuvent être causes d'erreurs.

Cette courbe étalon est valable aussi longtemps qu'on emploie une même solution de thromboplastine. En pratique, il est bon de refaire un étalonnage de la solution tous les trois jours et de ne pas garder une solution datant d'une semaine.

On trouve le taux de prothrombine d'un plasma quelconque en interpolant sur la courbe le temps de Qick de ce plasma. Par exemple, un temps de Quick de 18 secondes correspond sur la courbe à un point d'abcisse 41, soit 41 p. 100 le taux cherché.

Tanturi et Banfi préfèrent employer la formule empirique suivante :

$$\frac{100}{\text{P. 100 prothrombine}} = 0{,}555\ t - 8{,}24$$

Pour dresser la courbe, on porte alors en abcisses les temps en secondes et en ordonnées les concentrations relatives en prothrombine, soit : $C = \frac{100}{\text{P. 100 prothrombine}}$, on obtient une droite (fig. 3).

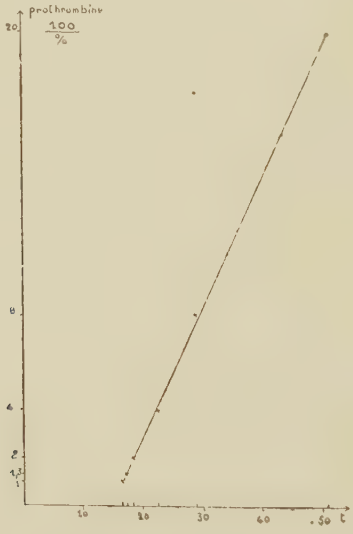


Fig. 3 : *Courbe d'étalonnage. Méthode de Tanturi et Banfi.*

Remarquons que pour un plasma normal non dilué, on a, par définition, p. 100 prothrombine = 100, c'est-à-dire ici : = 16 sec. 6/10 qui représente la condition nécessaire pour que l'équation soit valable.

Cette représentation a, sur la courbe de la fig. 2, un avantage certain ; l'interpolation peut se faire facilement pour des valeurs quelconques de t. quand on utilise la droite de la fig. 3, alors que la courbe représentée sur la fig. 2 ne permet une interpolation précise que pour des taux compris entre 10 p. 100 et 50 p. 100, En effet, pour les valeurs extérieures à cet intervalle, une des coordonnées du point de la courbe tend à devenir parallèle à la courbe.

Nous avons vérifié que l'équation classique :

$$\frac{\text{temps normal} \times 100}{\text{temps observé}} = \text{taux de prothrombine p. 100}$$

ne s'appliquait pas au calcul du taux de prothrombine, lorsque le temps est déterminé par la méthode de Quick.

— Préparation des Dilutions de Prothrombine :

a) Utilisation du sérum physiologique :

Quick, dans sa technique originale, dressait la courbe étalon en diluant le plasma dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000. Cette méthode avait le grand inconvénient de diluer en même temps le fibrinogène ; le premier résultat de cette pratique était d'augmenter considérablement la marge d'erreur pour des dilutions supérieures au quart, la coagulation cessant alors d'être explosive par manque de fibrinogène ; le deuxième reproche qu'on pouvait faire à ce genre de dilution était de comparer deux plasmas de compositions totalement différentes : en effet, le plasma témoin contenait non seulement une prothrombine diluée au quart, mais un taux de fibrinogène abaissé dans les mêmes proportions, alors que le plasma à doser n'était qu'hypoprothrombinémique. On était donc conduit à attribuer au plasma hypoprothrombinémique un taux de prothrombine supérieur à son taux normal.

b) Utilisation du plasma déprothrombiné :

Depuis longtemps, on connaissait les propriétés qu'ont certains adsorbants de débarrasser le plasma de la prothrombine, le rendant ainsi incoagulable par recalcification.

Il faut toutefois séparer ces adsorbants en deux catégories : les uns enlèvent le fibrinogène en même temps que la prothrombine, ce sont entre autres le phosphate tricalcique (Bordet et Delange — 20), l'hydroxyde de magnésium (Fuchs — 55 bis), on ne peut évidemment les utiliser ici ; les autres laissent à peu près intact le fibrinogène et enlèvent uniquement la prothrombine ; ce sont : l'hydroxyde d'alumine, employé par Quick et préconisé récemment par Lavergne (69) et Thodarson (122), le sulfate de baryum utilisé par Dale et Walpole (31) et que Tanturi et Banfi (121) viennent d'étudier à nouveau. Nous avons employé l'un et l'autre de ces adsorbants, appliquant pour l'alumine la technique donnée par Lavergne et pour le sulfate de baryum la méthode de fabrication et d'utilisation indiquée par Tanturi et Banfi. Nous trouvons que le sulfate de baryum présente beaucoup d'avantages, en particulier, après un à deux passages le plasma est complètement incoagulable et, de plus, la densité de l'adsorbant étant très grande, on peut l'enlever par centrifugation beaucoup plus facilement que l'alumine ; nous avons, par la suite, utilisé pour tous nos dosages une suspension de SO_4Ba à 30 p. 100

— Préparation de la solution à 30 p. 100 de SO_4Ba :

On dissout 35 gr. de $BaCl_2$ cristallisé dans 500 cc. d'eau, on ajoute une solution de 11 cc. de SO_4H_2 (1.84 d.) dans 500 cc. d'eau. On laisse déposer dans un verre conique ou dans un Erlenmeyer. On décante et on lave jusqu'à ce que la réaction de l'eau de lavage soit neutre au rouge de méthyle. On met alors en suspension dans 100 cc. d'eau distillée et on conserve dans un flacon bouché à l'émeri. On vérifiera de temps à autre la neutralité au rouge de méthyle et on lavera de nouveau si besoin est.

— Adsorption :

Pour adsorber, on mélange 1 cc. de plasma avec 0,2 cc. de la suspension de SO_4Ba (*) et on laisse 15 minutes au bain-marie à 37° en agitant. On centrifuge et on décante le plasma surnageant. On cherche le temps de Quick de ce plasma ; en pratique courante, on pourra l'utiliser s'il coagule en plus de 10 minutes. On sera parfois obligé de procéder à une seconde adsorption (après avoir vérifié le pH de la suspension de SO_4Ba). C'est le plasma ainsi traité qui servira à faire des dilutions.

— Avantages et inconvénients de cette méthode :

Cette technique pallie à la diminution du fibrinogène

(*) On peut opérer sur des quantités plus élevées de plasma, mais on devra respecter ces proportions.

et permet de parvenir à des concentrations en prothrombine très faibles (1/50-1/100). Quand on désire pousser très loin les dilutions, il est préférable de déprothrombiner un mélange de plasma pour avoir un taux moyen de fibrinogène. Les résultats obtenus sont excellents au point de vue pratique si on limite l'utilisation du plasma déprothrombiné à la courbe d'étalonnage ; malheureusement, nous sommes obligés de faire certaines réserves quant à la valeur théorique du procédé.

Nolf (88) dit avec juste raison que l'absence totale de coagulation d'un plasma n'est pas la preuve que toute la prothrombine est adsorbée mais seulement qu'*il existe à ce moment un équilibre entre les antithrombosines et la prothrombine restante.* Il faudrait donc pouvoir démontrer que le sulfate de baryum adsorbe aussi les antithrombosines, pour réfuter cette objection. Le dosage de ces corps est extrêmement délicat, par la méthode de dilution progressive et nous n'avons pu obtenir aucun résultat intéressant dans ce sens. De plus, le seul fait que le fibrinogène reste dans le plasma est une présomption en faveur de la théorie de Nolf qui a pu montrer qu'un plasma, traité par plus de dix passages sur le phosphate tricalcique, conservait encore, en solution, un mélange de prothrombine, d'antithrombosines et de fibrinogène, bien que sa coagulation ne soit plus possible.

Ce n'est pas, d'ailleurs, la seule critique qui puisse être faite. On peut facilement démontrer que dans un plasma déprothrombiné, aussi bien par l'alumine que par le sulfate de baryum, une grande partie du facteur A. de Quick reste en solution et peut interférer dans le dosage.

Malgré ces inconvénients, l'utilisation de plasma déprothrombiné est une nécessité presque absolue ; il nous semble cependant recommandable d'en limiter l'emploi à l'étalonnage de la thromboplastine, le plasma utilisé pour ce faire étant saturé en facteur B. et en facteur A.

— Méthodes utilisant pour la Détermination du Temps de Quick des Plasmas systématiquement dilués :

Nous avons signalé, en étudiant les méthodes graphiques, que l'erreur de calcul était très faible dans la partie de la courbe correspondant à un taux de prothrombine inférieur ou égal à 25 p. 100. Il était donc tentant de déter-

miner le temps de Quick sur des plasmas dilués au quart ou au dixième, de chercher le taux de prothrombine correspondant, puis de le multiplier suivant le cas par 4 ou 10. De très nombreux auteurs ont établi leurs méthodes (dérivées de celle de Quick) sur ce principe. L'agent de dilution est évidemment le plasma déprothrombiné, et parfois une solution de fibrinogène. Nous n'avons pas employé le fibrinogène, aussi n'en parlerons-nous pas, mais l'utilisation du plasma déprothrombiné ne peut donner aucun bon résultat pour les raisons théoriques citées au paragraphe précédent qui se trouvent confirmées par l'expérience.

— Méthodes Mathématiques :

Eagle (37) avait, dès 1935, préconisé l'emploi de techniques mathématiques dans l'étude de la coagulation et indiqué une méthode générale. Fischer reprenant une idée déjà ancienne qui établissait une proportionnalité inverse entre les logarithmes des temps et les logarithmes des concentrations, a proposé la formule suivante (*) :

$$\frac{1}{t} = k\, c^a$$

ce qui devient en transformant en logarithmes :

$$\log.t = -a \log.c - \log.k$$

ou on a : t = temps de coagulation,
c = concentration en prothrombine,
k et a sont des constantes qui dépendent des conditions expérimentales, a est déterminé par la pente du diagramme (coefficient exponentiel).

De nombreux auteurs ont utilisé cette formule en faisant varier les concentrations de thrombine, de fibrinogène...

Plus nombreux encore sont les travaux où elle est appliquée à l'étude des anticoagulants. Dans la majorité des cas la courbe trouvée est une droite et pour des conditions expérimentales identiques, on doit obtenir des réseaux de droites parallèles, donc le coefficient a est défini pour n'importe quel point de la courbe et même pour n'importe quelle

(*) Les données mathématiques, ici exposées, viennent en partie d'un travail de Mlle D. Quivry (110).

courbe du réseau, ce qui justifie l'emploi de la formule.

Nous avons essayé d'appliquer cette formule de Fischer à l'étude du taux de prothrombine. Nous n'avons pas pu obtenir de courbe rectiligne, donc le coefficient a varie suivant les différents points du graphique. Il n'est donc pas possible d'utiliser cette formule lorsqu'on emploie la technique de Quick.

Par ailleurs, environ une fois sur dix, nos courbes sont concourantes (fig. 4). Cette intersection est beaucoup plus nette ici que dans les autres graphiques.

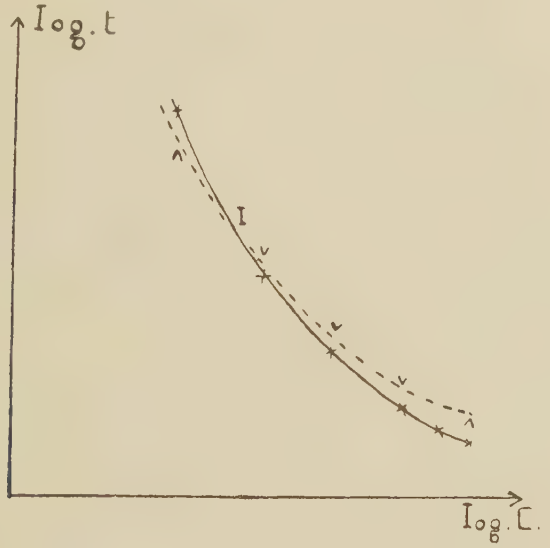


Fig. 4 : *Courbe d'étalonnage. Formule de Fischer.*

La courbe du plasma normal en trait plein,
La courbe du plasma hypoprothrombinémique en pointillé I est le point d'intersection.

Il s'ensuit que le rapport $\frac{\text{taux du plasma normal}}{\text{taux du plasma hypo}}$ s'inverse de part et d'autre du point I et un plasma qui était hypoprothrombinémique peut ainsi devenir hyperprothrombinémique, à partir d'une certaine dilution.

Ceci confirme l'opinion émise par Nygaard (95) qui con-

sidère qu'à chaque taux de prothrombine correspond une courbe propre. De son côté, Quick ne peut obtenir de droite avec la formule de Fischer lorsqu'il en fait l'application au dosage de la prothrombine. Par contre, Witts, utilisant le venin de vipère, aurait pu obtenir des résultats valables. Nous ne généraliserons donc pas ces résultats qui ne sont peut-être vrais que pour la technique de Quick ; ils démontrent suffisamment qu'il est dangereux de diluer systématiquement les plasmas inconnus, pour les doser par cette méthodes.

CONCLUSIONS :

Après avoir passé en revue les différentes techniques de dosage de la prothrombine, nous avons montré les avantages que présente la méthode de Quick : simplicité relative et résultats suffisamment précis.

D'autre part, nous préconisons l'utilisation du sulfate de baryum en solution à 30 p. 100 pour déprothrombiner les plasmas, tout en montrant qu'un plasma incoagulable après adsorption n'est pas forcément exempt de prothrombine ; c'est la seule modification que nous proposions à la technique originale de Quick.

Une étude critique des variantes de la technique de Quick, nous a permis de mettre en évidence qu'il ne faut pas diluer un plasma inconnu avant d'en déterminer le temps de Quick.

CHAPITRE III

Les Hypoprothrombinémies

Avant d'aborder ce chapitre, consacré à l'étude des diverses hypoprothrombinémies, nous voulons rapidement résumer les notions, maintenant classiques, sur le mode d'action de la vitamine K dans l'organisme.

VITAMINE K ET PROTHROMBINE :

En 1929, Dam (33) mettait en évidence chez le poulet un état hémorragipare guéri par une substance vitaminique qu'Almquist (1) devait identifier par la suite. Ce corps fut appelé vitamine K. A l'heure actuelle, on connait deux vitamines K (K1 et K2) chimiquement définies. Dam donna une définition physiologique de l'unité vitaminique K.

La vitamine K est absorbée dans l'intestin et passe dans le foie. C'est dans cet organe que se forme la prothrombine. Il n'est pas encore certain que la vitamine K entre dans la composition de la prothrombine, bien que Nyons ait défendu cette théorie ; il est possible qu'elle joue seulement, dans la synthèse de ce corps, le rôle de catalyseur obligatoire. La présence de bile est nécessaire à l'absorption intestinale de la vitamine K ; les états pathologiques entraînant la rétention biliaire amèneront donc une chute du taux de prothrombine. L'intégrité du parenchyme hépathique joue aussi un rôle important dans la synthèse de la prothrombine à partir de la vitamine K. Il est probable que certaines bactéries intestinales sont capables de synthétiser le noyau naphtoquinone de la vitamine K 2 ; l'ingestion de produits tels que la sulfaguanidine est donc capable d'entraîner des hypoprothrombinémies, en stérilisant le milieu intestinal. (18). Enfin, certains corps semblent

pouvoir se substituer à la vitamine K au niveau du foie pour empêcher la synthèse de la prothrombine.

CLASSIFICATION DES HYPOPROTHROMBINÉMIES :

Nous allons, maintenant, pouvoir distinguer quatre types d'hypoprothrombinémies, suivant les processus qui sont en cause.

a) Hypoprothrombinémies par carence en Vitamine K :

Elles sont rares chez l'homme puisque la flore intestinale peut faire la synthèse, au moins partielle, de la vitamine K 2 ; il faudrait qu'au régime carencé s'associe un certain degré de stérilité du milieu intestinal, ce qui se rencontre rarement, en dehors des conditions d'expérience.

b) Hypoprothrombinémies par défaut d'absorption de la Vitamine K :

Ce sont les hypoprothrombinémies des rétentions biliaires et des maladies intestinales.

L'absence de sels biliaires entraîne l'impossibilité pour la muqueuse d'absorber la vitamine K ; c'est pourquoi il est bon d'associer ces deux éléments lorsque la vitamine K est prescrite per os. Ce type d'hypoprothrombinémies se rencontrera surtout dans les ictères par obstruction et disparaîtra par ingestion de vitamine K.

L'hypoprothrombinémie des affections intestinales est due probablement à trois causes qui peuvent se surajouter : modification de la flore, lésions de la muqueuse et, parfois, accélération du transit. On peut rencontrer des taux très bas lorsque ces trois étiologies s'associent.

c) Hypoprothrombinémies par défaut de Synthèse :

Lorsque la vitamine K, bien qu'absorbée, ne forme pas de prothrombine, il faut penser à une lésion hépatique puisque le foie est le lieu de synthèse de ce corps.

— Les Hépatites ;

Les hépatites sont une cause fréquente d'hypoprothrombinémies et les cirrhoses sont capables d'abaisser le taux de prothrombine au-dessous de 20 p. 100. Bien que ce taux soit la limite supérieure de la zone hémorragique, il

ne semble pas que ces hypoprothrombinémies déterminent les hémorragies des cirrhotiques dont elles seraient seulement un facteur favorisant. Dans certains ictères bénins, il faut faire la part de l'hépatite et de la rétention ; cliniquement, des selles peu décolorées peuvent expliquer un taux de prothrombine normal et la recherche de l'augmentation de ce taux après injection de vitamine K au malade peut mettre en évidence soit l'hépatite, soit la rétention ; en effet, si la rétention existe seule, l'injection de vitamine K rétablit le taux normal de prothrombine, au contraire en cas d'hépatite le temps de Quick ne change pas (*).

— La Dicoumarine :

Depuis quelques années, la connaissance des dérivés de la coumarine a permis de mettre en évidence un type un peu particulier d'hypoprothrombinémie ; longtemps considérée comme un toxique, agissant électivement sur le foie, la 3-3-méthylène-bis 4-hydroxycoumarine semble rentrer, d'après Witts (131) dans la catégorie des antivitamines. La dicoumarine déplacerait la vitamine K des complexes qu'elle donne au niveau du foie avec les enzymes formateurs de la prothrombine. Une certaine identité de structure dans la formule des deux corps semble accréditer cette théorie.

Linck a étendu cette conception à l'acide salicytique et à ses dérivés mais les doses actives sont alors très fortes ; Quick, d'ailleurs, ne semble pas partisan d'étendre à ces corps la théorie de Witts sur les antivitamines.

L'intoxication thérapeutique par la dicoumarine est mantenant entrée dans la pratique courante pour la prévention et le traitement des phlébites (Laville-70). Field (51) a montré que, chez les rats, la dicoumarine et l'acide salicylique pouvaient, étant ingérés par la mère, déterminer des hypoprothrombinémies chez les petits qu'elle allaite. Il serait donc recommandable de suivre le taux de prothrombine chez les nouveaux-nés nourris par une mère qui reçoit du dicoumarol.

A ces hypoprothrombinémies d'origine hépatique, il faut ajouter l'hypoprothrombinémie des cardiaques qui serait due à la stase hépatique et aux lésions parenchyma-

(*) Pour pratiquer ce tests, nous conseillons d'employer la vitamine K hydrosoluble en injection intraveineuse (Synkovit) ou à défaut un mélange de vitamine K et de sels biliaires à prendre per os.

teuses fréquentes surtout dans l'asystolie. Un traitement toni-cardiaque permettrait de faire disparaître l'hypoprothrombinémie due à la stase mais non celle qui provient de l'hépatite surajoutée.

d) Hypoprothrombinémies de Causes Inconnues :

Il existe un certain nombre d'hypoprothrombinémies dont la pathogénie nous échappe. Les unes se rencontrent au cours de maladies générales comme tuberculose, anémies pernicieuses, les autres sans que le sujet présente aucun trouble associé. Dans cette dernière catégorie, l'hypoprothrombinémie est dite idiopathique (13-86) ; le taux de prothrombine étant généralement situé autour de 40 p. 100, il n'existe pas de troubles de la crase sanguine et le diagnostic se fait seulement à l'occasion d'un examen systématique. Quick (107) a décrit une forme congénitale et héréditaire entrant dans le cadre des hypoprothrombinémies idiopathiques.

ETUDE DE LA PROTHROMBINE DANS LES HYPOPROTHROMBINEMIES :

Nous avons vu (chapitre I) que la prothrombine était un complexe de deux facteur A et B unis par le calcium : certains auteurs considèrent que, seul, le facteur B, est la prothrombine, le facteur A correspondrait à la tryptase plasmatique. Pour simplifier une étude extrêmement complexe nous n'utiliserons, dans la suite de ce chapitre, que les termes de composants (facteurs) A et B.

Quick a montré (104) que l'hypoprothrombinémie due à la conservation d'un plasma et celle causée par la dicoumarine, n'avaient pas, pour origine, la diminution simultanée des deux composants, mais dépendaient du composant B dans les plasmas de sujets dicoumarinés.

Reprenant cette étude, nous avons recherché si l'hypoprothrombinémie d'origine hépatique provient de l'abaissement conjugué des deux facteurs ou seulement d'un seul et, dans ce cas, pour l'identifier, nous allons utiliser la technique suivante dont le principe est de mélanger des plasmas hypoprothrombinémiques à des plasmas normaux, conservés (sans facteur A) ou hypoprothrombinémiques.

Technique : Bien que nous n'utilisions pas les mêmes proportions que Quick dans nos mélanges, le principe est le même : on

détermine le temps de Quick de deux plasmas dont les caractéristiques sont connues.

On mélange ces deux plasmas en mettant parties égales de chacun.

On détermine le temps de Quick du mélange.

a) Hypoprothrombinémies d'Origine Hépatique :

Par définition, le facteur A disparaît lorsque le plasma est conservé en glacière ; si le temps de Quick du mélange, plasma conservé, plasma provenant d'un hépatique, est plus rapide que celui de chacun des plasmas compo-

TABLEAU 1.

N°	Caractéristiques des plasmas hépatiques	Temps de Quick	Plasmas conservés	Temps de Quick	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
1	Spirochétose ictéro-hémorragique	17" ½	5 jours	27"	14"	16" ½
2	Ictère par rétention.	18"	5 jours	27"	14" ½	16" ½
3	Ictère par rétention.	17" ½	5 jours	27"	14"	16" ½
4	Syndrome ictéro-ascitique	20"	5 jours	27"	14" ½	16" ½
5	Cirrhose	20"	10 jours	30"	16"	16" ½
6	Ictère par rétention.	20"	3 jours	18"	16"	16"
7	Hépatite grave avec ictère	22"	4 jours	21"	15" ½	15" ½
8	Ictère infectieux bénin.....	14"	5 jours	22"	11'	12" ½
8	Ictère infectueux bénin.....	22"	5 jours	22"	16"	19"
8	Ictère infectieux bénin	22"	6 jours	29"	16"	19"
9	Cirrhose	17"	7 jours	26"	14" ½	15"
10	Hépatite chez un cardiaque	19"	6 jours	29"	13"	15"

Tableau montrant les résultats de mélanges plasma d'hépatique plus plasma conservé.

sants, c'est que chacun d'eux contient le facteur qui fait défaut à l'autre.

Le plasma conservé apportant le facteur B, il s'en suit que l'hypoprothrombinémie des hépatiques sera caractérisée par un manque de composant B et un facteur A normal. C'est ce que montre le tableau 1.

Nous voyons donc que le mélange d'un plasma d'hépatique avec un plasma conservé donne un temps de Quick au moins égal à la nomale, c'est-à-dire que *l'hypoprothrombinémie des hépatiques est causée par une déficience du composant B.*

Nous ne pouvions, toutefois, manquer d'être frappé par les temps de Quick très courts que nous obtenions et qui, bien souvent, étaient inférieurs à la normale. Il importait de savoir sous quelle influence se produisait cette hyperprothrombinémie artificielle. Ayant éliminé facilement les facteurs thromboplastiques puisque les variations de leur pouvoir activant ne changent pas l'aspect du phénomène, nous avons cherché à savoir si ces réactions étaient

TABLEAU 2

N·	Caractéristiques des plasmas hépatiques	Temps de Quick	N·	Plasmas conservés	Temps de Quick	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
15	Ictère infectieux bénin	17"	5	7 jours	26"	16" ½	15"
10	Hépatite	19"	5	8 jours	28"	17" ½	15"
15	Ictère infectieux bénin	17"	9	7 jours	26"	14"	15"
10	Hépatite	19"	9	8 jours	28"	13"	15"
12	Ictère par rétention	17" ½	3	5 jours	28"	17"	15" ½
18	Ictère par rétention	17"	3	5 jours	28"	16"	15" ½
12	Ictère catarrhal	17" ½	4	2 jours	17"	14"	15" ½
18	Ictère catarrhal	17"	4	2 jours	17"	13" ½	15" ½

Tableau montrant que le plasma conservé est la cause des hyperprothrombinémies artificielles

sous la dépendance du plasma conservé ou du plasma hypoprothrombinémique.

Le tableau 2 montre que le plasma conservé, c'est-à-dire celui qui apporte le facteur B, est probablement seul en cause.

Il nous reste encore à montrer que le facteur B est non seulement suffisant pour ramener une hypoprothrombinémie d'origine hépatique à un taux normal, mais encore que, seul, il est capable de relever le taux de prothrombine du mélange.

Le mélange de deux plasmas hypoprothrombinémiques frais, donc diminués tous deux en facteur B, restera inactif; c'est ce que montre le tableau 3.

TABLEAU 3

Premier plasma hépatique	Temps de Quick	Deuxième plasma hépatique	Temps de Quick	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
Ictère par rétention	17" ½	Cirrhose	20"	17" ½	16" ½
Spirochétose ictéro-hémorragique	17" ½	Ictère par rétention	18"	18"	16" ½
Ictère par rétention	18"	Hépatite	17" ½	17" ½	16" ½

Tableau montrant que le mélange de deux plasmas hypoprothrombinémiques frais ne diminue pas le temps de Quick moyens des plasmas

De plus, *si un plasma hypoprothrombinémique provenant d'un hépatique est conservé, son taux ne peut plus être rétabli par un plasma conservé normal;* en effet, le plasma hypoprothrombinémique conservé n'a plus ni facteur A, ni facteur B; le tableau 4 illustre ce fait.

L'ensemble des recherches que nous venons d'exposer nous permet d'établir deux points :

Le premier est que *pour ramener un taux de prothrombine à 100 p. 100 en mélangeant deux plasmas ayant*

des temps de Quick augmentés, il faut que chacun d'eux apporte à l'autre le facteur qui lui fait défaut. Un plasma

TABLEAU 4

N°	Caractéristiques des plasmas hépatiques	Temps de Quick	Plasmas conservés	Temps de Quick	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
4	Syndrome ictéroasthénique	29"	4 jours	27"	28"	16" ½
19	Ictère par rétention.	32"	2 jours	21"	24"	17"
9	Cirrhose	30"	8 jours	27"	26" ½	15" ½
18	Ictère catarrhal	26"	4 jours	21"	21"	15" ½
20	Hépatite	35"	5 jours	29"	33"	19"
21	Ictère grave	37"	7 jours	26"	32"	15"

conservé, dont le facteur A a seul disparu, apporte un excès de facteur B. Un plasma hypoprothrombinémique dont le composant B est seul diminué, apporte une certaine quantité de composant A libre, c'est-à-dire en excès sur le facteur B. Le mélange de chacun de ces plasmas en égale quantité aura un taux proche de la normale.

Le second est que *dans les hypoprothrombinémies dues à l'insuffisance hépatique qu'elle qu'en soit la cause, le facteur B est seul diminué.*

b) Hypoprothombinémies dues au Dicoumarol :

Ces hypoprothrombinémies, se reproduisant facilement sur des animaux d'expérience, ont été mieux étudiées au point de théorique que les hypoprothrombinémies des hépatiques qui sont pourtant connues depuis plus longtemps. Quick (104) et O'Neal et Lam (95 bis) ont montré que, dans ce cas aussi, seul le composant B était diminué.

Les résultats que nous avons obtenus confirment entièrement ceux trouvés jusqu'alors ; nous en donnons un résumé dans le tableau 5.

Les mesures rapportées dans le tableau 5 concordent sensiblement avec celles du tableau 1, et nous pouvons faire à peu près les mêmes constatations que précédemment sur les hyperprothrombinémies artificielles.

TABLEAU 5

N°	Dose de Dicoumarol	Temps de Quick	Plasmas conservés	Temps de Quick	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
1	800 mgr. phlébite Diagn. : phlébite	23"	4 jours	27"	19"	16"
3	500 mgr. Diagn. : phlébite	18"	15 jours	35"	17"	17"
8	500 mgr Diagn. : thrombose	13" ½	5 jours	23"	11"	12" ½
8	500 mgr. Diagn. : thrombose	21"	6 jours	29"	16"	19"
11	500 mgr. Diagn. : oblitération artérielle	17" ½	2 jours	21"	14"	14" ½
12	600 mgr. Préventivement	15"	7 jours	26"	14"	14" ½
14	500 mgr. Diagn. : thrombose	17"	8 jours	29"	14" ½	15"
5	900 mgr. Diagn. : thrombose	26" ½	3 jours	20"	18"	16"

Tableau montrant les résultats de mélanges plasma dicoumariné plus plasma conservé.

LE FIBRINOGENE DANS LES HYPOPROTHROMBINEMIES :

Dans une étude récente, Nitshe (87) a montré que le taux du fibrinogène présentait une assez grande importance dans le dosage de la prothrombine. Lavergne, en 1945 (69) avait déjà attiré l'attention sur ce point ; mais il avait attribué à l'hypofibrinémie l'augmentation du temps de Quick des plasmas conservés, ce qui est erroné ainsi que Quick devait le montrer (106). Il n'en est pas moins vrai que les hypofibrinémies accentuées peuvent influer sur le dosage de la prothrombine par la méthode de Quick et risque d'allonger le temps trouvé. Ceci peut même justifier, dans une certaine mesure, le dosage du plasma hypofibrinémique

après dilution dans du plasma déprothrombiné qui a un taux normal de fifrinogène. L'hyperfibrinémie, par contre, semble avoir une influence moins nette.

Il est donc intéressant, lorsque le temps de Quick est allongé, de connaître les variations de la teneur du plasma en fibrinogène.

Dans les hypoprothrombinémies dues à la diminution du composant B, le taux du fibrinogène est essentiellement variable suivant l'étiologie de l'hypoprothrombinémie.

Nous ne pouvons étudier ici la question, d'ailleurs assez bien connue, des variations de la fibrinémie dans la pathologie hépatique. Nous préférons rapporter le travail récent de Dale, Irish et Jacques (32) qui ont étudié l'influence de la dicoumarine sur le taux du fibrinogène sanguin ; ces auteurs concluent que pour les doses importantes de dicoumarol, il y a abaissement de la fibrinémie et, au contraire, augmentation, pour les petites doses. Le dicoumarol a donc une action comparable à celle des autres toxiques hépatiques. Il faudra tenir compte des doses thérapeutiques de dicoumarie employées pour essayer de trouver le rôle respectif du facteur fibrinémie et du facteur hypoprothrombinémie dans l'allongement du temps de Quick. La façon dont se forme le caillot lors du dosage est, à ce point de vue, assez instructif (caillot mou ou à demi-liquide si le fibrinogène manque).

De plus, une conclusion s'impose, c'est que l'utilisation de faibles doses de dicoumarine dans le traitement ou la prévention des phlébites va à l'encontre du but désiré en abaissant peu le taux de prothrombine et en augmentant sensiblement celui du fibrinogène.

LE CALCIUM DANS LES HYPOPROTHROMBINEMIES :

Quick (10) a montré que la décalcification du sang par l'oxalate ne relevait pas d'un mécanisme simple. La réaction, en effet, n'est pas instantanée et la coagulation peut se faire en présence d'une quantité d'oxalate pourtant juste nécessaire pour précipiter tout le calcium. Pour éviter la formation de caillot, il faut employer une concentration en oxalate supérieure à la concentratin minima car la vitesse de décalcification semble proportionnelle à la con-

centration du milieu en produit décalcifiant. De plus, la thromboplastine obligerait à augmenter encore la quantité d'oxalate. Il était logique de penser que la recalcification n'était pas, non plus, un phénomène simple.

Pour des plasmas normaux, la concentration optima en chlorure de calcium varie entre M/20 et M/40 car nous employons, non une solution d'oxalate à M/10 pour décalcifier, mais une solution de citrate à 2,5 p. 100.

Jacques et Dunlop (65) ont montré que dans l'intoxication par le dicoumarol la quantité de calcium utilisée pour la recalcification ne pouvait subir des varitiaons aussi

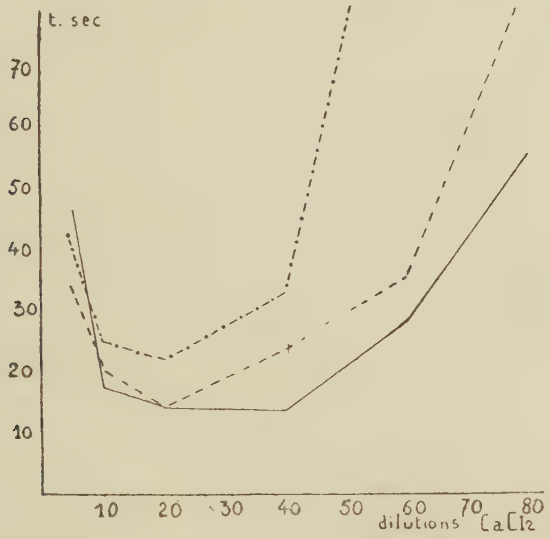


FIG. 5 : ———— *plasma normal*
— — — — *plasma d'ictérique*
—.—.—.— *plasma conservé*
Les chiffres portés en abcisse sont les fractions de la conciutration M

étendues que celle utilisée pour recalcifier un plasma normal. La concentration optima, pour les plasmas de sujets dicoumarinés, correspondrait à la limite supérieure de la quantité de chlorure de calcium nécessaire pour recalcifier un plasma normal.

Nous avons cherché à savoir si la diminution du facteur A ne donnait pas lieu à un phénomène identique. L'étude comparée des temps de Quick de plasmas normaux,

hypoprothrombinémiques (ictère) et conservés, pour des concentrations variables de chlorure de calcium, nous a permis d'obtenir le graphique représenté à la fig. 5.

On voit que le plasma hypoprothrombinémique et le plasma conservé se comportent à peu près de la même manière et que les conclusions de Jacques et Dunlop peuvent leur être appliquées.

INTERET DU DOSAGE DE LA PROTHROMBINE DANS LES HYPOPROTHROMBINEMIES :

Chez les hépatiques, la mesure du taux de prothrombine permet de suivre l'évolution de la maladie et de noter les réactions du sujet à l'apport de vitamine K (66).

Chez les sujets traités par la dicoumarine, le dosage de la prothrombine est un contrôle biologique nécessaire. La détermination du temps de Quick permet de vérifier l'efficacité de la thérapeutique et donne l'alarme lorsqu'on approche de la zone hémorragique.

CONCLUSIONS :

Reprenant les recherches de Quick sur l'existence de deux composants dans la prothrombine, nous avons pu séparer in-vitro le facteur A, qui disparait seul par conservation, du facteur B, stable.

Nous avons vérifié que le facteur B, par contre, est seul abaissé dans les hypoprothrombinémies d'origine hépatique ou produites par le dicoumarol.

Etudiant alors le processus qui nous permettait de rétablir un temps de Quick normal, en mélangeant en parties égales un plasma conservé et un plasma hypoprothrombinémique, nous avons conclu que le facteur B en excès sur le facteur A dans le plasma conservé s'unissait au facteur A en excès sur le facteur B dans le plasma hypoprothrombinémique.

Après après avoir rapporté les variations du fibrinogène dans l'intoxication par la dicoumarine, nous avons montré que la quantité de chlorure de calcium permettant d'obtenir un temps de Quick optimum avec des plasmas hypoprothrombinémiques d'origine hépatique ou avec des plasmas conservés ne pouvait varier que dans des limites étroitement définies, en opposition avec ce que nous avions constaté pour des plasmas normaux.

CHAPITRE IV

Les Hyperprothrombinémies

Si l'hypoprothrombinémie est une manifestation indiscutable de certains états pathologiques, il n'en est pas de même de l'hyperprothrombinémie. Quick met en doute son existence et surtout dénie toute valeur aux procédés généralement employés pour la mettre en évidence. Il est certain qu'il existe des divergences très importantes suivant les techniques utilisées.

METHODES ET RESULTATS :

H. Salles (113) donne, des hyperprothrombinémies gravidiques, une bibliographie importante d'après laquelle nous devons distinguer deux types de méthodes destinées à doser la prothrombine.

Dans les premières, le plasma hyperprothrombinémique est dosé après dilution au quart ou au dixième (et même plus) ; le taux moyen obtenu est de 180 p. 100 à l'approche du terme de la grossesse.

Dans les secondes où la technique de Quick est employée sans dilution du plasma à doser, le taux moyen est de 110 à 115 p. 100.

Nous avons constaté que ces résultats pouvaient être étendus aux hyperprothrombinémies rencontrées en dehors de la grossesse.

Dans le chapitre II, nous avons exposé les raisons qui nous font repousser l'utilisation des méthodes avec dilu-

tion systématique. Nous définirons donc l'hyperprothrombinémie de la manière suivante :

> Si plusieurs plasmas normaux donnent un certain temps de Quick, un plasma sera considéré comme hyperprothrombinémique si son temps de Quick est inférieur d'au moins une seconde au temps moyen des plamas témoins.

Il est certain que, dans ces conditions, il est très difficile d'assigner un taux au plasma hyperprothrombinémique, le point correspondant à son temps de Quick ne se trouvant pas sur la courbe étalon. Il faudra donc, soit recourir à une extrapolation, soit utiliser une formule semblable à celle proposée par Tanturi et Banfi : la formule de Fischer, en effet, est inutilisable, le cœfficient a ne pouvant être connu au point trouvé puisque la courbe n'est pas rectiligne. C'est pourquoi nous préférons comparer des temps plutôt que des taux.

Nous voyons, qu'en opposition avec l'étude des hypoprothrombinémies, un travail sur les hyperprothrombinémies se heurte, dès son début, à d'assez grandes difficultés pratiques.

ETIOLOGIE DES HYPERPROTHROMBINEMIES :

Les causes déterminantes des hyperprothrombinémies sont assez mal connues ; il semble cependant qu'on puisse le diviser en deux grandes catégories.

a) Hyperprothrombinémies des Maladies Thrombosantes :

Dans beaucoup de maladies pouvant déterminer des thromboses veineuses ou artérielles, on rencontre des taux de prothrombine supérieurs à la normale. Nous ne pensons pas toutefois que la thrombose détermine cette hyperprothrombinémie. Chez un sujet ayant fait une phlébite du membre supérieur qui ne devait être mise en évidence qu'après l'apparition de deux infactus pulmonaires, nous avons pu trouver un taux de 120 p. 100 un mois et demi après la guérison complète, sans aucune séquelles. De même, des dosages, pratiqués avant l'opération, chez des femmes atteintes de fibrome, nous ont montré qu'il existait une hyperprothrombinémie variant entre 110 et 130 p. 100 sans

aucun signe de phlébite. Par contre, nous avons trouvé des taux de prothrombine inférieurs ou égaux à la normale, mais jamais en-dessus de 60 p. 100 chez des malades présentant des signes de phlébite caractérisée. Nous pensons donc que, dans les phlébites, l'hyperprothrombinémie n'est pas un signe de la maladie, mais une cause favorisante due à un trouble organique général.

Les thromboses artérielles, les thromboses rétiniennes et les maladies cardiaques thrombosantes nous ont donné des résultats assez variables ; nous ne relevons que deux hyperprothrombinémies certaines ; l'une d'entre elles (thrombose de la veine centrale de la rétine) s'est montrée extrêmement résistante à la dicoumarine, ce qui serait, d'après certains auteurs, un caractère assez fréquent des hyperprothrombinémies.

b) Hyperprothombinémies Gravidiques :

Le taux de prothrombine chez la femme enceinte a fait l'objet de nombreux travaux dont Salles (loc. cit.) a donné la bibliographie.

La méthode de Quick montre qu'il existe une hyperprothrombinémie assez constante pendant la grossesse et qu'elle est maxima au moment de l'accouchement ; utilisant la méthode électrophotométrique de Meunier, Portes et Varangot (100) trouvent des hypoprothrombinémies presque constantes, de même Perrier (99) qui utilise la méthode de Smith. Il est probable que les techniques utilisées par ces auteurs ne sont pas sans reproche, car l'hyperprothrombinémie gravidique est maintenant une notion généralement admise au point de vue biologique et, de plus, en excellent accord avec la clinique. On a pu montrer ( ) que la rate gestante a un taux de prothrombine supérieur à la normale et que sa résistance à l'intoxication par la dicoumarine est augmentée.

N'ayant jamais utilisé la méthode de dilution dans nos dosages, nous n'en trouvons pas moins un temps de Quick inférieur à la normale d'une seconde ou une seconde 1/2, chez les femmes enceintes ou récemment accouchées ; nos taux correspondent sensiblement à ceux des auteurs qui ont employé la même technique ; ils varient entre 115 et 150 p. 100 à quelques exceptions près.

FACTEURS AUTRES QUE LA PROTHROMBINE POUVANT INTERVENIR DANS LE DOSAGE DE L'HYPERPROTHROMBINEMIE :

Nous avons dit qu'un taux de fibrinogène abaissé pouvait allonger le temps de Quick (p.). Inversement, un taux de fibrinogène supérieur à la normale pourrait être capable de raccourcir le temps de Quick et nous trouverions ainsi une fausse hyperproihrombinémie.

Nitshe (87) a montré récemment que cette question de l'hypo et de l'hyperfibrinémie présentait une réelle importance. Nous devons toutefois faire remarquer que les techniques de dilution où se rencontrent les taux les plus élevés, sont celles où le fibrinogène utilisé ne provient pas du plasma à doser. De plus, quand nous obtenons des hyperprothrombinémies artificielles, par mélange de plasma normal conservé et de plasma hypoprothrombinémique, il est certain que le plasma conservé a perdu, après quesques jours en glacière, une certaine partie de son fibrinogène, donc que l'hyperfibrinémie ne peut être misee en cause.

Même si nous ne pensons pas que l'augmentation du taux du fibrinogène fausse réellement le dosage, nous ne devons pas perdre de vue que la grossesse, tout comme les autres états où se rencontrent les hyperprothrombinémies, s'accompagne d'un taux de fibrinogène élevé.

HYPERPROTHROMBINEMIES ARTIFICIELLES :

Nous avons appelé hyperprothrombinémies artificielles celles que nous réalisions en mélangeant en parties égales certains plasmas normaux conservés avec des plasmas frais hypoprothrombinémiques (p. 44). Nous avons montré que cette propriété appartenait seulement à quelques plasmas conservés et qu'elle était indépendante du temps de conservation. Il est donc logique de penser que le facteur B est en cause puisqu'il ne varie pas dans un plasma conservé alors que le facteur A diminue.

D'autre part, dans le tableau 6, nous voyons que certains plasmas frais donnent des réactions hyperprothrombinémiques in-vitro, par mélange avec un plasma hypoprothrombinémique frais; dans d'autres cas, ce mélange ne redonnera qu'un taux de 100 p. 100.

TABLEAU 6

Plasmas hypoprothrombinémiques	Temps de Quick	Temps de Quick des plasmas normaux	Temps de Quick des mélanges	Temps de Quick normal
Ictère grave	22"	15" ½	15"	15" ½
Ictère catarrhal	22"	19"	18"	19"
Ictère infectieux	17"	15"	14"	15"
600 mgr. Dicoumarine	13" ½	13"	12"	13"
Ictère par rétention.	19"	18"	18"	18"
Cirrhose	17"	15"	15"	15"
Cirrhose	20"	16" ½	16" ½	16" ½

Nous pouvons donc admettre que même les plasmas frais normaux sont capables de ramener à un taux égal ou supérieur à la normale des plasmas hypoprothrombinémiques.

Pour ne pas surcharger inutilement cette étude nous ajouterons que le mélange en parties égales de deux plasmas frais normaux, donne un taux de prothrombine égal à 100 p. 100 mais pas supérieur à la normale ; enfin, des plasmas frais normaux, dilués avec des plasmas conservés normaux, ne montrent aucune réaction anormale.

Nous sommes donc à même de conclure à l'existence d'un excès du facteur B sur le facteur A, dans les plasmas donnant des temps de Quick normaux. C'est cette quantité libre du composant B qui réagit dans le mélange d'un plasma frais normal avec un plasma hypoprothrombinémique.

Pour exprimer cette constatation que Quick avait déjà faite, nous dirons que *le plasma humain contient moins que l'optimum en composant A par rapport au composant B.*

Cette étude des hyperprothrombinémies artificielles nous a permis de mettre en évidence le rôle prépondérant du facteur B dans le phénomène. Nous avons, d'autre part, pu découvrir la composition relative du plasma normal en facteur A et en facteur B.

HYPERPROTHROMBINEMIES NATURELLES :

L'étude que nous venons de faire des hyperprothrombinémies réalisées in-vitro, nous a permis de montrer que l'augmentation du facteur B pouvait abaisser le temps de Quick au-dessous de la normale. Nous avons ainsi mis en évidence la possibilité d'existence des hyperprothrombinémies.

Nous allons maintenant chercher à savoir si l'hyperprothrombinémie constatée in-vivo, n'est que la réplique naturelle de ce que nous avons réalisé in-vitro.

Le mélange d'un plasma frais normal qui, nous venons de le voir, est saturé en facteur B mais pas tout-à-fait en facteur A, avec un plasma frais hyperprothrombinémique, tendrait à diminuer l'hyperprothrombinémie ainsi que le montre le tableau 7. Ces deux plasmas ne se complètent donc pas l'un l'autre ; comme le plasma frais normal n'a de libre qu'un peu de composant B, nous pouvons en conclure que c'est probablement aussi le cas du plasma hyperprothrombinémique.

TABLEAU 7

Temps de Quick du plasma hyperprothromb.	Temps de Quick du plasma normal	Temps de Quick du mélange	Temps de Quick normal
13"	15" ½	13" ½	15" ½
14"	15" ½	15" ½	15" ½

De même, le mélange d'un plasma conservé normal avec un plasma hyperprothrombinémique. Donc *l'apport de facteur B libre n'augmente pas l'hyperprothrombinémie*, au contraire, ce qui vérifie bien que *le plasma hyperprothrombinémique n'a pas de facteur A en excès sur le facteur B.*

Enfin, nous avons vu que certains plasmas normaux, frais ou conservés, donnaient des réactions hyperprothrombiémique. Si le plasma normal est remplacé par un plasma hyperprothrombinémique, la réaction se produit toujours et encore plus nettement ; les temps obtenus sont alors de deux à trois secondes inférieurs au temps normal.

Par analogie avec ce que nous savons des hyperprothrombinémies artificielles, nous pouvons dire qu'en première approximation l'hyperprothrombinémie naturelle est due à une augmentation du taux du facteur B.

VARIATIONS DU COMPOSANT A COMPAREES A CELLES DU COMPOSANT B :

Quick n'a rapporté que des variations saisonnières du facteur A. Toutefois, il est permis de penser que des variations pathologiques peuvent exister à côté de ces variations physiologiques.

Nous avons cherché à savoir quel était le taux du facteur A dans les hyperprothrombinémies. Pour cela, nous avons conservé pendant 3 jours un plasma normal, un plasma hypoprothrombinémique, et un plasma hyperprothrombinémique, en mesurant toutes les 24 heures le taux de prothrombine de chacun d'eux. Nous avons obtenu les trois graphiques représentés sur la fig. 6.

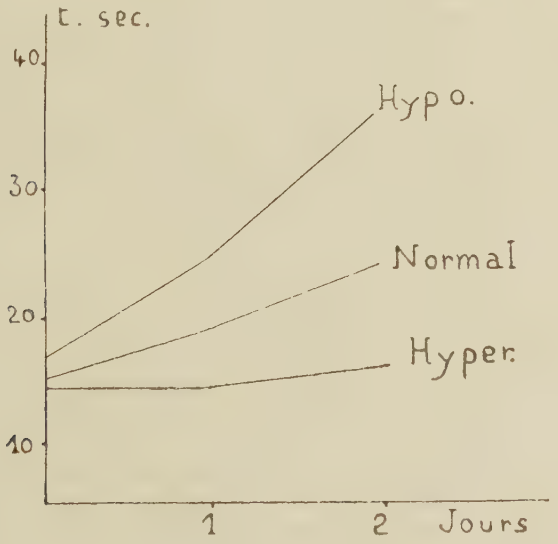


FIG.6 : *Diminution du composant A mesurée par l'augmentation du temps de Quick en fonction du temps de conservation*

A première vue, le composant A semble avoir un taux plus élevé dans les hyperprothrombinémies, puisque le temps de Quick augmente plus lentement. De même, le taux du facteur A semble plus faible dans les hypoprothrombinémies.

Nous pourrions donc donner la représentation schématique suivante (fig. 7) du taux relatif des composants A et B dans les plasmas normaux hypoprothrombinémiques et hyperprothrombinémiques.

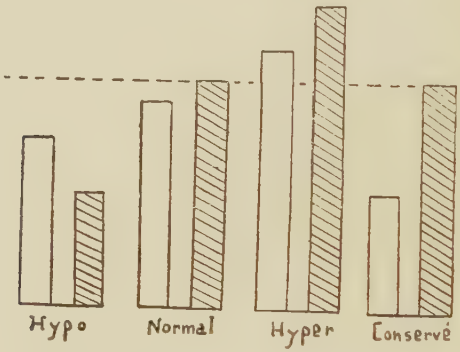


Fig. 7 : *Facteur B hachuré, facteur A en blanc.*

Tout ceci revient à dire que les variations du composant A suivent celles du composant B mais sont beaucoup plus faibles.

Cette théorie présente l'avantage d'expliquer, dans une certaine mesure, la difficulté qu'on éprouve à faire baisser le taux de prothrombine par la dicoumarine, chez des sujets présentant une hyperprothrombinémie. En effet, non seulement le facteur B est alors supérieur à la normale et atteindra moins vite des taux bas, mais encore le facteur A, supérieur lui aussi à son taux normal, ne suivra la baisse du facteur B que beaucoup plus lentement.

Aucune des constatations que nous venons de faire ne permet de considérer le facteur A comme une tryptase plasmatique, mais rien non plus ne prouve le contraire et seuls d'autres arguments permettront de trancher le différend qui existe entre ceux qui considèrent la prothrom-

bine comme un complexe A-Ca-B et les auteurs qui la rattachent à l'unique facteur B.

CONCLUSIONS :

Dans ce chapitre, nous avons constaté l'existence d'hyperprothrombinémies physiologiques ou pathologiques bien que Quick mette leur réalité en doute.

Dans nos expériences, nous avons mis en évidence l'augmentation du facteur B alors que dans les conditions où nous nous trouvions, le fibrinogène ne pouvait être en excès et par conséquent intervenir comme l'ont prétendu certains auteurs.

Nous avons alors proposé un schéma montrant les variations relatives des facteurs A et B dans les plasmas normaux, hyperprothrombinémiques, hypoprothrombinémiques et conservés.

CHAPITRE V

Trypsine et Phospholipides dans la Coagulation

Les auteurs qui, au début de ce siècle, étudièrent la coagulation sanguine, remarquèrent qu'à côté de la coagulation physiologique du plasma, un certain nombre de corps étaient capables d'amener la formation d'un caillot par un mécanisme anormal puisqu'ils agissaient en l'absence de calcium. On s'aperçut vite que tous les produits actifs étaient doués du pouvoir protéolytique ce qui ajouta un nouvel argument à la théorie enzymatique de la coagulation.

ACTION DES PROTEASES SUR LA PROTHROMBINE :

Les différents agents protéolytiques actifs sur la prothrombine doivent être divisés en deux groupes.

Les uns, en effet, provoquent en même temps que la transformation de la prothrombine en thrombine, la dénaturation du fibrinogène en fibrine. Ce sont : des venins tels ceux de Bothrops et certaines coagulases microbiennes.

Les autres n'ont aucune action sur le fibrinogène purifié ou sur le plasma privé de prothrombine. Ce sont la trypsine, la pyocyanicoagulase, certains venins et plus particulièrement celui de Vipera russellii qui ne serait actif qu'en présence de calcium.

Nous ne parlerons que de la trypsine et du venin de Vipera russellii qui agissent uniquement sur la prothrombine.

Nous avons dit que la thrombine résultait de la transformation de la prothrombine .Nous avons montré de plus que des raisons de grandeur moléculaire jointes aux varia-

tions du pH au cours de cette transformation, obligeaient à considérer cette réaction comme une protéolyse, scindant la prothrombine en molécules plus petites de thrombine. Il est à peu près certain que l'action des venins, de la trypsine et de la pyocyanicoagulase doit être rapprochée de celle des ferments du type tryptase plasmatique (facteur A) à qui nous avons attribué le clivage de la prothrombine.

Contrairement à ce qui se passe avec la tryptase dans la coagulation normale, ces différents ferments protéolytiques continuent à agir après l'apparition de la thrombine et sont capables de détruire thrombine et fibrinogène avant que la fibrine ait pu se former. Il faudra donc chercher une dilution de ces ferments permettant au fibrinogène de coaguler avant que sa protéolyse ne soit effective.

LE VENIN DE VIPERA RUSSELLII :

C'est Arthus (5) qui, en 1920, a noté l'action du venin de Vipera russellii. Edsall (40) et Mac Farlane (78) ont montré que ce corps n'agissait pas comme les autres ferments et venins et paraissait être très proche de la tryptase plasmatique. Pour agir, il faudrait à ce venin une concentration suffisante d'ions calcium ; les plaquettes ou les lipoïdes auraient le même rôle activant que dans la coagulation physiologique. Witts et Hobson (132-133), reprenant l'étude de l'action favorisante des lécithines sur la coagulation par ce venin de vipère, ont mis au point une technique particulière de mesure de la prothrombine dont nous avons eu déjà plusieurs fois l'occasion de parler et que nous allons étudier maintenant, en analysant les différents temps qui la composent.

Technique de Witts et Hobson :

Son principe est celui des méthodes de dosage en un temps, mais la thromboplastine est remplacée par le venin seul ou lécithiné.

Le sang est décalcifié par l'oxalate de potassium en solution à M/10. La solution recalcifiante est une solution à M/40 de chlorure de calcium.

On met 1 cc. de solution décalcifiante pour 9 cc. de sang.

La solution de lécithine est composée d'ovolécithine dissoute à raison de 10 gr. pour 100 cc. d'alcool à 95° Il faut ajuster par la soude le PH de la solution entre 7 et 8, car il y a une acidification nette.

On met 0,05 cc. de solution de lécithine pour 1 cc. de solution de venin.

Deux solutions de venin sont utilisées, l'une à 1/10.000, l'autre à 1/80.000. En pratique, on peut se servir d'une solution telle que le mélange venin-lécithine coagule un plasma normal en 10 secondes. Le sérum physiologique à 8.5 p. 1.000 est utilisé comme solvant.

Pour diluer le plasma et obtenir une courbe étalon, on utilise un plasma déprothrombiné par l'alumine.

Pour trouver le taux de prothrombine p. 100, on peut employer la formule classique :

$$\frac{\text{temps normal} \times 100}{\text{temps observé}} = \text{p. 100 prothrombine,}$$

qui serait valable avec cette méthode. De même la courbe tracée en portant les logarithmes des temps en ordonnées et les logarithmes des concentrations en abcisses serait une droite.

En plus du taux de prothrombine, cette méthode permet de déterminer ce que Witts appelle : « lécithin difference ».

L'action activante de l'ovolécithine dans la coagulation est considérée comme semblable à celle de l'activateur thermostable des plaquettes ; lorsqu'un plasma est saturé en lécithine, sa vitesse de coagulation cesse donc d'être influençable par les facteurs thromboplastiques et théoriquement, le taux de prothrombine intervient seul. La prothrombinémie est donc calculée à partir du temps de coagulation obtenu avec le mélange venin-lécithine.

En opposition, le temps de coagulation trouvé lorsqu'on utilise le venin seul va être influencé par la quantité et la qualité des thrombocytes du sujet qui a fourni le plasma. L'action de l'activateur issu des plaquettes est de raccourcir le temps de coagulation ; on peut donc considérer que la formation du caillot en présence de venin seul sera d'autant plus rapide que le nombre des thrombocytes du sang est plus élevé (une centrifugation de 10 minutes à 3.000 tours-minutes laisse la plupart des plaquettes dans le plasma).

La lécithin-difference représente l'écart existant entre le temps de coagulation du plasma par le venin seul (influencé par les thrombocytes) et le temps de coagulation en présence du mélange venin-lécithine (saturé en facteur thermostable) qui est le vrai temps de prothrombine.

La lécithin-difference sera donc inversement proportionnelle au taux des plaquettes sanguines. Elle est comprise entre 12 et 16 secondes pour sujet normal.

Witts a pu ainsi différencier trois types de tendances hémorragiques :

— L'hémophilie, où le taux de prothrombine et la lécithin difference sont normaux ;

— L'hémogénie, où le taux de prothrombine est normal et où la lécithin difference est augmentée ce qui correspond à un accroissement du temps de coagulation par le venin seul ;

— L'hypoprothrombinémie où les deux temps, soit avec soit sans lécithine, sont allongés, mais où la lécithin difference est normale.

Cette technique est encore récente et nous n'avons pas un recul suffisant pour juger de sa valeur. Elle repose entièrement sur une théorie de la coagulation que nous avons exposée au début de ce travail mais qui reste encore discutée. Elle présente des possibilités du plus grand intérêt, notamment en ce qui concerne la lécithin-difference mais elle a montré, avec les méthodes jusqu'alors utilisées, certains écarts mal expliqués dans la mesure des hypoprothrombinémies produites par le dicoumarol.

LA TRYPSINE :

C'est Heard (58) qui montra le premier que la trypsine peut coaguler le plasma oxalaté ; l'action accélératrice du ferment sur la coagulation normale était déjà connue. Mellenby contesta la découverte de Heard et effectivement ne put jamais obtenir de coagulation avec la trypsine en utilisant un plasma privé de calcium.

Il est probable que, dans ses expériences, le fibrinogène était protéolysé avant d'avoir pu coaguler.

Northrop et Kunitz (93) parvenaient en 1929 à obtenir une trypsine cristallisée. La pureté de l'enzyme ainsi préparé n'est toutefois pas formellement prouvée. Il est possible que les cristaux contiennent des proteines étrangères inactives homéomères. Là encore, la preuve définitive n'est pas faite que la protéolyse seule, est capable d'activer la prothrombine et thrombine.

La trypsine de Northrop dont l'activité est beaucoup plus forte et beaucoup plus stable que celle des trypsines utilisées jusqu'alors, a permis à Eagle et Harris (39) d'ap-

porter la démonstration du phénomène observé par Heard, en montrant que la coagulation du plasma oxalaté pouvait se produire sans que la présence de calcium puisse être suspectée. Ils ont, de plus, démontré que la trypsine est incapable de coaguler une solution de fibrinogène purifié, mais détruit ce fibrinogène en le protéolysant et le rend ainsi incoagulable.

Ferguson et Erickson (47-48-49) reprenant les expériences de Waldschmidt-Leitz (127) montrèrent que la trypsine, en présence de calcium, accélère la coagulation sanguine, en donnant des temps 10 fois plus cours que dans les conditions normales ; d'autre part, ils mirent en évidence le pouvoir activant des céphalines sur cette réaction.

Récemment, Frédéricq (54) a montré que la trypsine ne pouvait coaguler un plasma épuisé par le phosphate tricalcique qui enlève la prothrombine (il faut ajouter du fibrinogène qui est lui aussi adsorbé par le phosphate). La thrombine formée par action de la trypsine sur un plasma normal est de plus très instable, il est probable qu'elle est attaquée et protéolysée partiellement au fur et à mesure de sa formation.

Enfin, Studer (120) a pu préparer une « thromboplastine synthétique » en ajoutant des lipoïdes à la trypsine obtenue à partir de pancréatine Merck.

ETUDE PRATIQUE DE LA COAGULATION PAR LA TRYPSINE :

Nous avons utilisé dans nos expériences de la trypsine Merck que Monsieur le Pharmacien Principal Babin a bien voulu mettre à notre disposition, nous l'en remercions bien vivement.

Nous plaçant à un point de vue pratique, nous avons voulu savoir s'il était possible d'utiliser la trypsine pour mesurer le taux de la prothrombine plasmatique. Toutes nos recherches ont donc été faites sur des plasmas humains normaux ou pathologiques qui, décalcifiés, étaient par la suite recalcifiés. Nous cherchions en effet à obtenir un temps de coagulation suffisamment court pour une faible concentration de trypsine, ce qui nous permettait de diminuer la protéolyse des éléments du plasma pendant le temps nécessaire à la formation du caillot.

a) Méthode d'Etude :

Nous avons utilisé une méthode imitée de celle de Quick mais où la thromboplastine était remplacée par une solution de trypsine.

Voici un schéma de notre technique :

On met, dans un tube à hémolyse maintenu à 38° au bain-marie :

Solution de trypsine	0,2 cc.
Solution recalcifiante	0,2 cc.
Plasma	0,2 cc.

Les trois solutions doivent être ajoutées dans cet ordre pour éviter que la trypsine n'agisse sur le plasma avant l'adjonction du calcium. Le chronographe est déclanché lors de l'addition du plasma et arrêté dès que la coagulation se produit.

b) Détermination de la Solution de Trypsine :

Quand on veut utiliser la trypsine comme agent coagulant, il faut tenir compte :

— Du pH de la solution,

— De l'activité protéolytique du ferment sur le fibrinogène.

1°) Le pH : Le pH obtimum d'action de la trypsine est compris entre 7,3 et 7,8 ; on ajoutera donc un tampon au phosphate dans la solution où sera dissoute la trypsine. Voici la composition que nous avons adoptée :

Sérum physiologique à 9 p. 1.000.	9 cc.
Solution décalcifiante	0,2 cc.
Tampon au phosphate (pH 7,6)..	0,8 cc.

2°) Concentration en Trypsine : La concentration en trypsine doit être bien déterminée pour éviter la protéolyse trop rapide du fibrinogène.

Nous avons fait une série de dilutions de trypsine dont les titres étaient : 10 p. 100, 5 p. 100, 2,5 p. 100 et 1 p. 100.

Nous avons constaté que pour un taux de 10 p. 100 de trypsine, la coagulation ne se produisait pas. Nous avons pu vérifier que l'adjonction de thrombine pure n'entraînait alors aucune coagulation, donc le fibrinogène avait été digéré avat d'avoir pu se coaguler.

La concentration de 2,5 p. 100 nous ayant paru optima, en première approximation, nous avons essayé de déterminer si des concentrations comprises entre 2,5 et 4 grammes et 2,5 et 1,5 grammes p. 100, donnaient des temps plus courts. Nous n'avons pas trouvé de grandes différences entre les temps obtenus pour des solutions de trypsine à 3 gr. p. 100 et à 2,5 grammes p. 100, mais au contraire au-dessus et au-dessous de ces valeurs, le temps de coagulation augmente soit pas digestion du fibrinogène, soit par insuffisance en trypsine.

Dans le reste de notre travail, nous utiliserons donc une solution de trypsine à 2,5 grammes p. 100 dans un solvant ayant la composition déterminée ci-dessus.

c) Le Calcium :

Nous employons, pour décalcifier le sang, une solution de citrate de soude à 2,5 grammes p. 100, ce qui correspond à une concentration optima en chlorure de calcium de M/20 lorsqu'on utilise la méthode de Quick (chapitre III).

Nous avons trouvé que cette solution de chlorure de calcium à M/20 était parfaitement utilisable quand on se servait de trypsine comme activateur de la coagulation. Il nous a d'ailleurs semblé que de faibles variations dans le taux du calcium influençaient peu le temps de coagulation par la trypsine.

EMPLOI DE LECITHINES DANS LA COAGULATION PAR LA TRYPSINE :

Losqu'on emploie la trypsine pure, comme agent activateur de la coagulation, les facteurs thromboplastiques plaquettaires influent sur le temps de formation du caillot.

Il était nécessaire d'éliminer ces facteurs activants libérés par les thrombocytes pour parvenir à titrer uniquement la prothrombine plasmatique.

De même que Witts a utilisé dans ce but les propriétés activantes des lipoïdes de l'œuf, nous avons étudié l'action des lécithines sur la trypsine en nous servant d'ovolécithine officinale.

a) Concentration des Lécithines a employer :

En ajoutant des lécithines à une solution de trypsine,

le temps de coagulation diminue et peut devenir égal à 25 secondes et même moins pour un plasma normal.

Il était nécessaire de déterminer quelle devait être la concentration en phospholipides.

Pour cette étude, nous avons préféré utiliser une suspension d'ovolécithine dans du sérum physiologique à 9 p. 100 plutôt qu'une solution alcoolique dont le pH, diminuant avec le temps, doit être constamment vérifié. L'acidification de la suspension faite en sérum physiologique est beaucoup plus lente.

Pour déterminer ce taux de lécithine à mettre en suspension, nous avons cherché la quantité de ce corps qui permettait d'éliminer les facteurs activant lipoïdiques d'origine plasmatique. Pour cela, nous avons partagé un plasma normal en deux parties : l'une est gardée une heure à température normale, l'autre est portée à basse température dans la chambre frigorifique d'un frigidaire, pendant le même temps. Les plaquettes libèrent alors leur activateur thermostable dans le tube refroidi. Il suffit donc de déterminer le taux de lécithine pour lequel les temps de coagulation par la trypsine des deux échantillons de plasma, sont égaux.

La concentration optima ainsi obtenue correspond à 2 p. 100 d'ovolécithine.

Voici la technique de préparation de cette suspension :

On broie dans un mortier 0,4 gr. (*) de lécithine d'œuf avec 10 cc. de sérum physiologique à 9 p. 1.000 ; on obtient une suspension à particules très fines qui servira dans le dosage.

b) Mode d'Action de la Lécithine :

Nous avons pu montrer que cette lécithine qui diminuait de près de moitié le temps de coagulation par la trypsine, n'avait par contre aucune action sur le temps

---

(*) Comme, on pratique, on mélangera en parties égales, trypsine et lécithine, il faut préparer :

— Une solution de trypsine à 5 p. 100,

— Une solution de lécithine à 4 p. 100.

Plutôt que de mélanger les deux produits, on peut ajouter séparément 0,1 cc. de chacun, ce qui revient au même quant au titre des solutions à préparer.

de coagulation du plasma recalcifié (temps de Howell). C'est ce que résume le tableau suivant :

Tableau 8

Origine des Plasmas	Temps de Howell	Temps de Howell + lécithines
Sujet normal	3 min.	3 min. 35
Sujet normal	2 min. 40	2 min. 45
Accouchée	2 min. 20	2 min. 35
Ictérique	4 min. 30	4 min. 30
Phlébite traité par 800 mgr. de dicoumarine	8 min. 40	9 min. 30

Il est de même remarquable de constater que presque constamment il y a un léger allongement du temps de coagulation. Cette augmentation est très marquée pour les plasmas provenant de sujets ayant reçus du dicoumarol, ainsi que Witts l'avait noté.

Pour avoir un point de comparaison, nous avons extrait par le chloroforme les lipoïdes provenant d'une thromboplastine préparée par la méthode de Quick. Le chloroforme a été ensuite soigneusement évaporé et l'extrait traité par un mélange éther-alcool en parties égales. Après évaporation à 60°, sous vide faible, de l'éther-alcool, nous avons obtenu une pâte ayant l'aspect des lécithines commerciales. Nous n'avons malheureusement pas pu déterminer sa teneur en azote et en phosphore.

L'action de cet extrait lipoïdique n'est pas absolument comparable à celle de l'ovolécithine ; il semble pouvoir accélérer le temps de Howel bien que nos observations ne soient pas sur ce point absolument démonstratives ; le temps de coagulation par le mélange trypsine-lipoïdes cérébraux, ne tombait pas aussi bas qu'avec le mélange trypsine-lécithine d'œuf. Il est possible que la concentration de notre extrait en produits actifs ait été plus faible que celle de l'ovolécithine. Toutefois, l'utilisation de solutions contenant des taux croissants de lipoïdes cérébraux n'a pas raccourci ce temps. Il est probable qu'il existe des différences importantes entre l'ovolécithine et l'extrait lipoïdique de cerveau en ce qui concerne le taux des céphalines et les impuretés.

Ceci peut expliquer la différence d'action des deux produits.

LE FIBRINOGENE :

Si nous ne pensons pas que le taux du fibrinogène joue un grand rôle dans la mesure du taux de prothrombine par la méthode de Quick, nous sommes, par contre, persuadé que l'importance de la fibrinémie est très grande lorsqu'on étudie la coagulation par la trypsine. Au bout de 48 heures de conservation des plasmas dont le taux de fibrinogène était déjà bas à l'état frais, cessent d'être coagulables par le mélange trypsine-lécithine. Le temps de coagulation d'un plasma frais peut être allongé de 10 à 12 secondes dans les fortes hypofibrinémies ce qui introduit une énorme cause d'erreur ; ceci est certainement dû à la digestion du fibrinogène qui est toujours associée à la coagulation par la trypsine.

DOSAGE DE LA PROTHROMBINE PAR LA TRYPSINE :

a) Technique :

Des études que nous venons de faire et que le temps ne nous a pas permis de pousser plus loin, il ressort qu'il est théoriquement possible de doser la prothrombine par le mélange trypsine-lécithine mais non par la trypsine pure Voici la technique que nous avons utilisée :

Le sang est recueilli comme pour un dosage de prothrombine par la méthode de Quick.

Deux solutions de trypsine : l'une à 2,5 p. 100, l'autre à 5 p. 100.

Une suspension d'ovolécithine à 4 p. 100.

Dans un bain-marie à 38°, on met un tube à hémolyse dans lequel on ajoute dans l'ordre :

Trypsine à 2,5 p. 100	0,2 cc.
Chlorure de calcium à M/20	0,2 cc.
Plasma à doser	0,2 cc.

On déclanche alors le chronographe et on mesure le temps de coagulation.

Avec le même plasma, on procède à une seconde détermination :

Trypsine à 5 p. 100	0,1 cc.
Chlorure de calcium à M/20	0,2 cc.
Lécithine à 4 p. 100	0,1 cc.
Plasma à doser	0,2 cc.

On détermine ainsi un deuxième temps de coagulation.

Nous pouvons donc obtenir pour un même plasma :

— Le temps de coagulation par la trypsine pure,

— Le temps de coagulation par le mélange trypsine-lécithine,

— Une lécithine différence qui représente de grandes analogies avec celle de Witts.

b) Influence des Variations du Taux de Prothrombine :

Nous n'avons étudié l'influence des variations du taux de prothrombine que sur le mélange trypsine-lécithine.

Il suffisait, après avoir mis au point une méthode de dosage à vérifier au point de vue pratique que les variations du taux de prothrombine correspondaient à une augmentation continue des temps de coagulation ; ceci

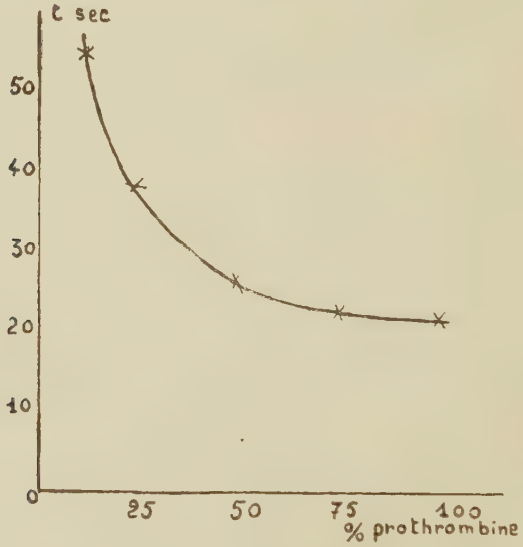


Fig. 8 : *Courbe montrant l'augmentation du temps de coagulation par le mélange trypsine-lécithine avec la diminution du taux de prothrombine (facteur B de Quick)*

revenait à dresser une courbe d'étalonnage du mélange trypsine-lécithine pour un plasma normal, exactement comme nous l'avions fait avec une solution de thromboplastine dans la méthode de Quick.

Etant donné l'importance du taux de fibrinogène dans le dosage, il était nécessaire d'utiliser, pour diluer le plasma normal, un plasma déprothrombiné. Il fallait donc vérifier tout d'abord que le mélange trypsine-lécithine ne coagulait plus un plasma traité par le sulfate de baryum. Aucun caillot n'étant apparu après adsorption du facteur de la prothrombine, nous pouvions donc employer ce plasma pour faire les dilutions.

Après avoir fait varier les concentrations en prothrombine entre 10 p. 100 et 100 p. 100, nous avons dressé la courbe étalon en portant en ordonnées les temps en secondes et en abcisses les concentrations pour 100. La graphique est représenté sur la fig. 8; il est assez semblable à celui obtenu par la méthode de Quick.

En portant en abcisses les logarithmes des concentrations p. 100 et en ordonnées les logarithmes des temps en secondes, nous avons obtenu la courbe de la figure 9 :

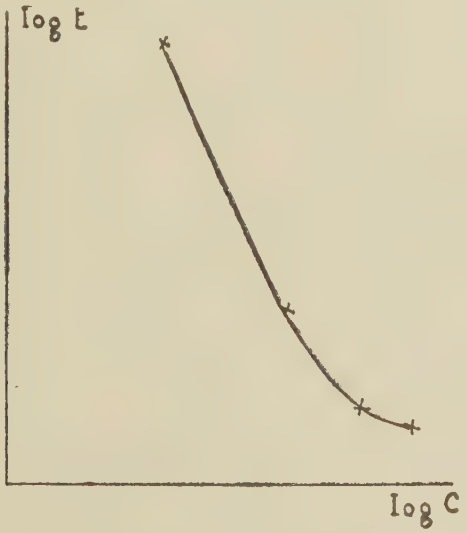


FIG. 9 : *Application de la formle de Fischer à la coagulation par le mélange trypsine-lécithine.*

La partie de cette courbe qui correspond aux concentrations inférieures à 50 p. 100, semble plus rectiligne que lors-

que nous avions utilisé la méthode de Quick pour déterminer les temps de coagulation (fig. 3). Toutefois, l'utilisation de la formule de Fischer ne nous paraît pas recommandable.

a) Résultats :

Nous n'avons pas eu la possibilité de réunir beaucoup d'observations. Dans un tableau synoptique, nous rapportons 29 mesures où sont comparés le temps de Quick, le temps de coagulation par la trypsine seule et le temps de coagulation par le mélange trypsine-lécithine (tableau 9).

Nous voyons que dans ce tableau l'approximation n'est pas très satisfaisante. Pour des plasmas normaux, les temps trouvés oscillent entre 19 et 30 secondes lorsqu'on emploie le mélange trypsine-lécithine et entre 38 et 64 secondes lorsqu'on emploie la trypsine seule. Dans ce dernier cas, les écarts sont plus compréhensibles.

La lécithine-différence que nous avons pu calculer pour un certain nombre de plasmas normaux, varie entre 20 et 38. Dans un cas de purpura rhumatoïde que nous n'avons pas rapporté ici, elle a été de 1 minute 20 secondes.

Les variations que nous enregistrons ne permettent pas l'utilisation pratique du dosage, elles sont probablement dues à plusieurs causes : taux variable des antilysines plasmatiques et quantités différentes de fibrinogène suivant les échantillons de sang utilisés. D'autre part, le mélange trypsine-lécithine ne paraît pas doué de la même stabilité que la thromboplastine de Quick et bien que le mélange des deux produits (trypsine et lécithine) se fasse au dernier moment, on peut enregistrer en dosant plusieurs fois un même plasma des variations de temps assez importantes.

Une mise au point de la méthode en tenant compte de ces causes d'erreurs devrait permettre d'obtenir des résultats plus constants.

MÉCANISME D'ACTION DU MÉLANGE TRYPSINE-LÉCITHINE :

Nous avons montré que l'ovolécithine utilisée n'avait pas d'action propre sur la coagulation, mais semblait agir

TABLEAU 9

Origines des Plasmas	Temps de Quick	Coagulation par Trypsine	Coagulation par Trypsine + lécithine	Ecart entre les 2 temps de coagulation par la trypsine
Grossesse	16"	30"	27"	3"
Ictère bénin	16" ½	36"	20"	16"
Plasma normal	13"	64"	26"	38"
Plasma inconnu	24"	2' 35"	57"	1' 38"
Plasma normal	16"		23"	
Ictère	24"		38"	
Cirrhose	26"		45"	
Grossesse	15"	38"	25"	13"
Grossesse	14"	40"	19"	21"
Plasma normal	15"	60"	40"	20"
Plasma inconnu	15"	51"	27"	24"
Grossesse	15"		26"	
Plasma normal	15"	59"	30"	29"
Plasma inconnu	18" ½	125"	45"	80"
Ictère par rétention..	18"	62"	45"	17"
Plasma normal	15" ½		27" ½	
Plasma normal	15"		25"	
Grossesse	14"		27"	
Grossesse	14"		24"	
Ictère grave	27"		40"	
Plasma normal	17"		38"	
Grossesse	16" ½		21"	
Plasma normal	16" ½		24" ½	
Plasma inconnu	17"		32"	
Plasma normal	15"		26"	
Ictère par rétention..	17"		18"	
Plasma normal	15"		25"	
Ictère par rétention..	15"		20"	

Les traits horizontaux encadrent les dosages où le temps de Quick normal est le même.

surtout en présence de trypsine. Il est possible que cette activité soit due à des impuretés ainsi que le pensent Fischer et Hetch (53). Mais il se peut aussi que l'action antiprotéolytique des lécithines et des céphalines ait sa part dans cette accélération de la coagulation. Rondoni (111 bis) a étudié cette question d'un point de vue chimique ; il semble que les acides gras non saturés qui existent dans les phospholipides puissent avoir une part dans cette inhibition de la protéolyse (Velluz), (126 bis).

Toujours est-il que la thromboplastine de Quick semble inactive au point de vue protéolytique et que la trypsine semble avoir une activité thromboplastique accrue lorsqu'on lui ajoute des corps susceptibles d'inhiber son pouvoir protéolytique. Ceci mettrait bien en évidence la dif-

TABLEAU 10

N° du Plasma	Plasma Frais		Pl. conservés 24 h.		Pl. conservés 48 h.	
	Temps de Quick	Temps de Tr.-Léc.	Temps de Quick	Temps de Tr.-Léc.	Temps de Quick	Temps de Tr.-Léc.
1	15" ½	27"	19"	33"	24"	35"
2	15"	25"	19"	28"	24"	31"
3	14"	26"	14"	26"	15" ½	27"
4	27"	40"	31"	52"	46"	(*)
5	14"	24"	14"	24"	15"	24"
6	17"	32"	25"	60"	36"	135"

férence qui existe entre les pouvoirs coagulant et protéolytque et montrerait que le second ne renforce pas forcémnt le premier.

Compte tenu des erreurs expérimentales, il semble que le mélange trypsine-lécithine agit comme une thromboplastine vraie dans la mesure où son pouvoir protéolytique diminue. Ceci correspond à l'opinion de Witts sur le mélange venin-lécithine.

Cette thromboplastine synthétique, sensiblement identique à celle préparée par Studer, semble agir non pas di-

(*) Après 48 heures de conversation, le fibrinogène du plasma n° 4 est lysé avant d'être coagulé.

rectement sur le facteur B mais bien sur le complexe A-Ca-B, car, lorsque le plasma est conservé, les temps de coagulation par le mélange trypsine-lécithine augmentent parallèlement à ceux obtenus en utilisant la méthode de Quick.

Le tableau 10 montre que le facteur A interfère dans le dosage de la prothrombine par le mélange trypsine- lécithine puisque la conservation allonge le temps de coagulation. les plasmas numéro 3 et numéro 5 varient peu car ils sont hyperprothrombinémiques.

CONCLUSIONS :

Reprenant des recherches déjà anciennes, sur l'action coagulante de certaines protéases, nous étudions la méthode proposée par Witts et Hobson pour la mesure du taux de prothrombine et l'appréciation indirecte des troubles de la crase sanguine (lécithine différence).

Cherchant à remplacer le venin de Vipera russellii utilisé par Witts, par la trypsine, nous étudions la coagulation produite par ce ferment en présence de calcium. Les résultats que nous obtenons ne nous permettent pas de proposer une méthodes utilisable en pratique courante, ils n'ont donc qu'une valeur purement expérimentale.

Il ressort cependant des expériences que nous avons pratiquées que le mélange trypsine-lécithine possède des propriétés identiques à la thromboplastine.

Les temps de coagulation obtenus en faisant agir ce complexe sur des plasmas semblent être influencés par le taux du facteur A autant que par celui du facteur B.

CHAPITRE VI

Applications Cliniques et Thérapeutiques aux Troubles de la Crase Sanguine

Si, jusqu'à maintenant, nous avons étudié la coagulation sanguine dans ses acquisitions les plus récentes et présenté nos recherches en particulier sur la prothrombine, nous voulons exposer, dans ce dernier chapitre, les applications cliniques de notre travail.

Les examens biologiques du sang peuvent, en effet, fournir des renseignements d'une incontestable valeur diagnostique au praticien qui se trouve en présence d'un trouble mal défini de la crase sanguine.

Nous devons considérer qu'il existe trois groupes de diathèses hémorragiques :

— L'hypoprothrombinémie,

— L'hémophilie,

— L'hémogénie dans laquelle nous inclurons les purpuras.

A chacun de ces troubles correspond une série de tests qui permettent d'en faire une entité biologique et facilitent la mise en jeu d'un traitement spécifique.

L'HYPOPROTHROMBINEMIE :

Nous avons décrit, au chapitre III, les différentes étiologies des hypoprothrombinémies ; aussi, n'y reviendrons-nous pas.

Nous avons dit que l'hypoprothrombinémie peut s'accompagner de variations dans le taux du fibrinogène plasmatique ; les hypofibrinémies, associées aux hypoprothrombi-

némies, sont parfois la cause de l'allongement du temps de coagulation et même du temps de saignement.

En réalité, un seul examen peut fixer avec certitude la valeur de la prothrombinémie, c'est la mesure du taux de prothrombine par une méthode présentant un maximum de garanties biologiques. De nombreuses raisons nous ont amené à choisir la méthode de Quick (chapitre II.), plus rapide que les méthodes en deux temps et d'une précision bien suffisante. Nous l'avons décrite, en même temps que nous avons donné la marche à suivre pour recueillir le sang nécessaire au dosage.

Les résultats obtenus ne sont qu'approchés. Nous ne pouvons pas demander à des techniques encore très empiriques, la précision de dosages pondéraux ou titrimétriques.

a) Les Quatre Degrés de l'Hypoprothrombinémie :

Pour des raisons surtout cliniques, il faut, à notre avis, diviser l'hypoprothrombinémie en quatre degrés :

— Nous admettons que les taux de prothrombine, compris entre 80 et 100 p. 100, ne peuvent pas être considérés comme véritablement abaissés, sans un contrôle. Dans ces conditions, un nouveau prélèvement de sang permettra de répéter le dosage et de confirmer le taux précédemment trouvé.

— Entre 80 p. 100 et 40 p. 100, l'hypoprothrombinémie est légère et nous pensons que dans le traitement des phlébites par la dicoumarine, il faut chercher systématiquement à obtenir des taux inférieurs à 40 p. 100. Dans cette zone, se trouve la plupart des taux mesurés au cours d'ictères catarrhaux.

— Les hypoprothrombinémies importantes sont comprises entre 40 et 20 p. 100. Pour ces valeurs de la prothrombinémie, la pleine efficacité du traitement par le dicoumarol est réalisée. Les ictères par rétention prolongée et les cirrhoses au début, relèvent souvent de cette catégorie d'hypoprothrombinémies.

— Les hypoprothrombinémies deviennent graves lorsque le taux de prothrombine descend au-dessous de 20 p. 100. Elles s'accompagnent alors d'un allongement du temps de coagulation et, dans certains cas, d'hémorragies.

Certains auteurs placent à 20 p. 100 la zone hémorragique. Nous pensons que ce chiffre est un peu fort ; c'est toutefois un taux d'alarme qu'il n'y a pas intérêt à dépasser dans la thérapeutique par la dicoumarine et qui doit faire réserver le pronostic dans les hépatites.

b) Temps de Coagulation et de Saignement dans l'Hypoprothrombinémie :

Nous tenons à faire remarquer que le temps de coagulation ne varie pas tant que le taux de prothrombine reste supérieur à 30 p. 100 de la normale ; le temps de saignement, de son côté, n'est jamais allongé dans l'hypoprothrombinémie pure. Pour une prothrombinémie inférieure à 20 p. 100, le temps de coagulation est, en général, nettement augmenté. La mesure, même très méticuleuse, de ce temps, ne peut donc remplacer la recherche du temps de Quick.

Dans la thérapeutique anticoagulante des phlébites, nous conseillons d'employer des doses de dicoumarol telles que le temps de coagulation soit légèrement allongé sans que le taux de prothrombine tombe au-dessous de 20 p. 100.

La surveillance biologique des hypoprothrombinémies est facilitée par la précision du dosage qui augmente lorsque le taux de prothrombine diminue, à contition de respecter strictement le mode de prélèvement et le temps limite entre la prise et le dosage.

En présence d'une hémorragie importante, il est toujours bon de rechercher le taux de prothrombine ainsi que le montre l'observation rapportée par Michaud (de Lausanne) ; cet auteur a récemment signalé des vomissements hématiques abondants, dans lesquels les recherches cliniques radiologiques et biologiques les plus soigneuses, n'ont pu montrer qu'un abaissement brutal de la prothrombine, sans aucun autre signe décelable.

c) Thérapeutique Spécifique :

En présence d'une hypoprothrombinémie, la médication de choix est la vitamine K. On peut l'utiliser sous trois formes : en ingestion, associée de préférence à des sels biliaires qui facilitent son absorption intestinale ; en injections sous-cutanées ou intramusculaires, souvent douloureuses, dont l'efficacité n'est pas supérieure à celle de la

voie orale ; en injections intraveineuses que permet une spécialité récente (*) ; l'activité de ce dernier produit fournit au thérapeute une arme du plus grand intérêt.

Les résultats de la médication par la vitamine K doivent évidemment être suivis par l'étude du taux de prothrombine. Les lésions hépatiques rendent cette thérapeutique souvent décevante ; il ne faut pas hésiter à utiliser une dose totale très forte, surtout dans les intoxications par la dicoumarine ou les ictères par rétention prolongée.

Des recherches encore plus récentes nous ont fourni un médicament souvant très utile, en permettant l'administration de thrombine. Nous avons eu l'occasion de suivre l'action de ce produit dans une intoxication très grave par la dicoumarine où le taux de prothrombine était tombé au-dessus de 5 p. 100 et où le temps de coagulation était de 24 minutes en tube à hémolyse (calibre 8 millimètres) ; des hématuries abondantes formaient un tableau clinique très alarmant et avaient nécessité plusieurs transfusions qui furent sans effet. Deux injections de thrombine intramusculaires, quotidiennes ont arrêté les hématuries et trois ou quatre jours après, le taux de prothrombine commençait à se relever pour atteindre assez rapidement la normale. Nous insisterons sur les symptomes objectifs présentés par la malade qui, quelques heures après la première piqûre de thrombine, signalait une transformation dans la couleur de ses ongles qui se teintaient de rose. La dose de vitamine K ingérée et donnée en injections intramusculaires s'élevait à 5 à 6 grammes.

Nous verrons avec l'hémophilie le mécanisme d'action de la thrombine injectable (**).

CONCLUSION :

En résumé, l'hypoprothrombinémie est une entité biologique, ne s'accompagnant pas forcément de signes clini-

---

(*) Nous remercions bien sincèrement la Maison Hoffmann Laroche qui nous a largement ravitaillé en vitamine K hydrosoluble injectable par voie intraveineuse.

(**) Nos remerciements bien sincères iront à la Maison Roussel pour le produit fourni et à Monsieur Crut pour sa précieuse documentation.

ques. Elle ne peut être mise en évidence que par la mesure du taux de prothrombine.

Le traitement spécifique des hypoprotrhombinémies est la vitamine K, qu'il est parfois nécessaire de donner à très forte dose, l'efficacité du traitement sera suivie par la recherche de la prothrombinémie. La thrombine injectable peut être utilisée dans les cas graves, mais, faute d'observations suffisamment nombreuses, nous ne pouvons pas encore en faire une thérapeutique spécifique.

L'HEMOPHILIE :

a) Pathogénie :

Un des troubles de la crase sanguine qui a suscité et suscite encore le plus de travaux est sans aucun doute l'hémophilie.

Bien qu'une certaine obscurité continue à régner sur la pathogénie de cette maladie, il est généralement admis que le fibrinogène des hémophiles n'est pas transformé en fibrine parce que la thrombine de ces malades est ou bien inexistante ou bien inactive. Le taux de prothrombine mesuré par la méthode de Quick est normal quoique certains l'aient prétendu diminué ; c'est donc une autre substance qui paraît faire défaut.

Pour Pateck, Feissly et de nombreux auteurs, le plasma d'un hémophile ne contient pas une quantité normale de tryptase (facteur A). Ceci correspondrait, ainsi que nous le montrons dans notre schéma de la coagulation, à une incapacité pour l'activateur thermostable de l'hémophile, de transformer la protryptase en tryptase alors qu'un activateur thermostable exogène (thromboplastine de Quick), pourrait transformer la protryptase hémophilique en une tryptase active sur la coagulation bien que son activité protéolytique semble plus faible.

Cette tryptase plasmatique est probablement identique à la globuline antihémophilique isolée par Cohn dans la fraction I et dans la fraction mixte II, III des plasmas normaux. L'action du chloroforme et de la streptolysine (Kaplan) serait d'activer le précurseur de la globuline antihémophilique (protryptase) en globuline antihémophilique active (tryptase).

Tocantins et, après lui, Feissly ont trouvé dans certains plasmas d'hémophiles un taux élevé d'antithrombine immédiate (par opposition à l'antithrombine progressive contenue dans les plasmas normaux et qui s'unit à la thrombine pour donner la métathrombine inactive). Il est possible que cette antithrombine joue un rôle important dans certaines hémophilies, ce qui expliquerait les taux de prothrombine bas qu'ont trouvés certains auteurs, l'antithrombine interférant dans le dosage de la prothrombine.

b) Les Tests de l'Hémophilie :

La recherche et le dosage des antithrombines immédiates et progressives est l'œuvre de spécialistes et ne peut se faire couramment dans un laboratoire.

Le test important, au point de vue biologique, est la dissociation entre le taux de prothrombine, normal ou très peu diminué et le temps de coagulation très augmenté.

Il est courant de voir rechercher le temps de coagulation d'un malade par des méthodes qui ne peuvent donner aucun résultat valable.

C'est une hérésie de prendre le sang à l'oreille ou au doigt dans l'intention de déterminer le temps de coagulation. Le prélèvement ainsi fait apporte des facteurs thromboplastiques tissulaires qui accélèrent la coagulation dans d'énormes proportions.

Le prélèvement doit être fait par ponction veineuse. On doit pénétrer dans la veine sans hésitation, si on ne peut y parvenir du premier coup, il faut changer d'aiguille pour recommencer. Le prélèvement fait, on enlève l'aiguille de la seringue (si on a employé une aiguille à plateau et recueilli directement le sang dans un tube, il ne faut pas prendre les premières gouttes) et on met le sang dans deux ou trois tubes très propres (chauffés au rouge ou lavés au mélange sulfochromique), de diamètres identiques et égaux à 8 millimètres environ. Dans chaque tube, on met la même quantité de sang en évitant de faire de la mousse, ce qui accélère le temps de coagulation. On peut mettre les tubes dans un bain-marie à 37° ou à l'étuve, ou simplement les garder dans un endroit tiède, à température à peu près constante. Pour déterminer le temps de coagulation, on prendra le temps qui s'est écoulé entre le moment du prélèvement et celui où les trois tubes peuvent être renversés

sans que le sang s'écoule. Pour fixer cet instant on inclinera toutes les deux minutes, puis toutes les minutes, un des tubes (toujours le même) et on ne touchera aux autres que plus rarement, toutes les 3 ou 4 minutes par exemple. Généralement, c'est le tube qu'on a agité le plus souvent qui coagule le premier. On attend que les deux ou trois tubes soient coagulés, on note le temps de coagulation de chacun d'eux et on fait la moyenne arithmétique.

Il existe de nombreuses variantes à cette technique ; nous ne pouvons entreprendre ici leur étude critique et nous recommandons de ne les employer qu'avec beaucoup de prudence et de faire preuve d'une grande circonspection dans l'interprétation des résultats.

Le temps de coagulation en tube est normalement de 7 à 15 minutes ; il varie suivant le diamètre du tube. Un temps supérieur à 15 minutes est suspect et s'il est plus long que 30 minutes, le diagnostic d'hémophilie peut être porté.

Il est bon de conserver à l'étuve les tubes où le sang a coagulé pour observer la rétraction du caillot, généralement normale et la fibrinolyse, parfois retardée ou même inexistante. Cette absence de fibrinolyse serait due à l'action protéolytique très faible de la tryptase qui serait d'autant plus facilement inhibée par les globulines antifibrinolytiques du plasma.

Normalement, la rétraction se fait en une heure et la fibrinolyse en 4 ou 5 jours si le milieu est stérile.

c) Therapeutique specifique :

Les thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hémophilie sont trop nombreuses pour que nous essayons d'en donner même un bref aperçu. Nous nous contenterons de citer quelques thérapeutiques auxquelles la théorie semble devoir conférer une certaine spécificité. Nous rappelons toutefois que la folliculine a pu dans certains cas, donner des résultats intéressants mais le mécanisme de son action reste très obscur.

Nou étudierons en premier lieu l'action de la globuline antihémophilique trouvée en grande partie dans la fraction I de Cohn. L'injection intra-veineuse de cette fraction diminue très nettement le temps de coagulation des

hémophiles. Il est nécessaire de répéter les injections une à deux fois par jour pour maintenir le temps de coagulation dans les limites normales, un contrôle strict de ce temps est évidemment nécessaire. La répétition des injections est facilitée par l'absence de phase réfractaire.

Cette médication qui semble être la plus spécifique de toutes celles proposées jusqu'à ce jour, est malheureusement à peu près impraticable en France où nous ne possédons pas de préparation utilisable de globuline antihémophilique.

Dans le même ordre de recherche, Parfentjev a obtenu par précipitation du plasma par le sulfate d'ammoniaque, une préparation de globuline qui se comporte comme une thrombine, bien que préparée sans addition de calcium ni de thromboplastine. Ce produit est utilisé non seulement dans l'hémophilie mais aussi comme hémostatique local.

Plutôt que de chercher à redonner à l'hémophile le facteur plamastique mal connu qui lui fait défaut, d'autres auteurs ont résolu le problème en essayant de fournir au malade la thrombine qui n'apparaît pas chez lui. Le traitement, préconisé autrefois par Weil, qui consistait en injections de sérum frais, très riche en thrombine, donnait de bons résultats.

Récemment, G. Crut a préparé une thrombine animale adsorbée sur du glycocolle ; il appelle ce produit thrombase (*). Nous avons eu l'occasion d'employer et de voir employer ce produit comme hémostatique local où il donne d'excellents résultats. Par ailleurs, nous avons précédemment rapporté une observation où il avait permis de juguler une grave hématurie dicoumarinique qui mettait les jours de la malade en danger.

Nous n'avons malheureusement pas obtenu dans le traitement de deux hémophilies le succès rapporté par le Professeur Bénard.

Chez l'un de ces malades, âgé de 25 ans, l'hémophilie était probablement acquise, les premiers troubles étant apparus à l'âge de 7 ans. Les examens de laboratoire montraient : temps de coagulation (**) 1 h. 35 minutes, taux

(*) Un certain nombre d'auteurs appellent la prothrombine, prothrombase et la thrombine, thrombase.

(**) Nous recherchons ce temps en mettant 2 cc. de sang prélevé à la veine dans un tube à hémolyse de 8 mm. de diamètre ; nous le gardons dans une étuve à 37°.

de prothrombine 40 p. 100, temps de saignement normal. Une vérification du fonctionnement hépatique a montré une légère déficience : thymol-test + 70.

Après traitement pendant 48 heures, par la vitamine K associée aux sels biliaires per os, le taux de prothrombine est revenu à la normale.

Après deux injections de thrombase, le temps de coagulation tombe à 35 minutes, reste stationnaire pendant deux semaines malgré l'injection intraveineuse quotidienne d'une ampoule de thrombase. Après quinze jours de thérapeutique le temps de coagulation remonte à 1 h. 30 et même 2 heures. Le taux de prothrombine reste à 70 p. 100.

Nous avons été considérablement gêné par l'insuffisance hépatique surajoutée à l'hémophilie ; aussi est-il délicat de se baser sur un malade atypique pour juger l'action du produit.

Notre seconde observation a été prise sur un enfant de 11 ans atteint d'hémophilie congénitale. Son frère aîné était décédé d'une hémorragie due à l'hémophilie. Nous n'avons pas d'autres renseignements sur les membres de sa famille.

Les examens donnaient : temps de coagulation 35 minutes, taux de prothrombine 100 p. 100.

Après deux jours de médication à raison d'une injection intra-veineuse de thrombase par jour, le temps de coagulation passe à 17 minutes, mais comme précédemment, l'amélioration ne se maintient pas et le temps de coagulation remonte peu à peu à 25 minutes, 38 minutes, puis une heure 5 minutes.

Nous ne pouvons pas porter de jugement définitif en nous appuyant sur deux cas isolés quand, au moins, une observation, celle du Professeur Bénard, va formellement à l'encontre de nos constatations.

Crut repoussant l'objection généralement faite à la thrombine intra-veineuse qui diminuerait le taux du fibrinogène, nous sommes conduit à admettre que le taux des antithrombines immédiates peut être augmenté par l'injection de thrombase intraveineuse ; c'est un fait qui mériterait d'être vérifié.

L'injection elle-même ne présente aucun danger, à condition de ne pas aspirer de sang dans la seringue contenant la solution de thrombase.

CONCLUSION :

Donc, en plus des signes cliniques qui ne sont que des manifestations de la tendance hémorragique des hémophiles, il existe trois signes biologiques de l'hémophlie : temps de coagulation supérieur à 30 minutes, taux de prothrombine normal, activité fibrinolytique diminuée.

La thérapeutique spécifique est la globuline antihémophilique. La thrombase intraveineuse présenterait une spécificité moindre.

HEMOGENIE :

Nous groupons, sous le nom d'hémogénie tout un groupe de maladies à manifestations cliniques variables mais qui ont pour signe commun l'augmentation du temps de saignement.

a) Le Temps de Saignement :

Le seul signe véritablement constant de l'hémogénie est l'allongement du temps de saignement; il peut coexister avec deux autres symptomes : la thrombopénie et la fragilité vasculaire, mais pas obligatoirement avec les deux, d'où la classification en purpuras thrombopéniques et purpuras vasculaires. Il faut remarquer que le facteur vasculaire se retrouve dans la plupart des purpuras thrombopéniques mais que la thrombopénie peut faire défaut aux purpuras vasculaires purs.

La recherche du temps de saignement est relativement facile, on l'appelle aussi épreuve de Duke :

On fait dans le lobule de l'oreille, une piqûre, profonde de 4 millimètres et large de 3 millimètres, avec la pointe d'un vaccinostyle et on essuie avec une feuille de papier buvard chaque goutte de sang qui apparaît jusqu'à la dernière ; chez un sujet sain, cela demande deux à trois minutes.

Roskam a modifié la technique en lavant avec un léger jet de sérum physiologique la plaie qui a été faite.

Un temps de saignement se prolongeant au-delà de 4 minutes est très suspect, et, au-delà de 6 minutes, doit être considéré comme pathologique.

On peut donc définir le temps de saignement comme le temps nécessaire à l'hémostase d'une petite hémorragie cutanée provoquée.

Mettant hors de cause la surface de la lésion qui doit, sous peine d'erreur, être minime, nous envisagerons les différents facteurs intéressés et le rôle qu'ils jouent dans la formation du thrombus. Ces facteurs sont au nombre de trois :

— Le deuxième temps de la coagulation,

— Les thrombocytes,

— Les vaisseaux.

En étudiant chacun d'eux, nous montrerons par quels tests on peut mettre leur rôle en évidence et comment il est possible de distinguer entre les différentes espèces d'hémogénies.

b) La Coagulation :

Sauf dans certains cas où l'hémophilie coexiste avec l'hémogénie ou bien chez des sujets présentant une forte hypofibrinémie, le temps de coagulation et le taux de prothrombine sont normaux chez les hémogènes. On a pu montrer que chez certains arthropodes complètement dépourvus de fibrinogène, l'hémostase était réalisable par simple accolement des plaquettes.

De plus, dans l'hémophilie pure et même dans les fortes hypoprothrombinémies, le temps de saignement reste généralement normal.

c) Les Plaquettes :

La réalisation des purpuras expérimentaux par injection de sérum antiplaquette, met bien en évidence le rôle capital des thrombocytes dans les maladies hémogéniques. Une autre preuve de l'importance de ces cellules dans l'hémostase spontanée est donnée par la possibilité qu'ont les arthropodes afibrinémiques d'arrêter les hémorragies locales provoquées.

Sans entrer dans une étude microscopique complète du clou hémostatique, nous résumerons les points fondamentaux de sa formation et nous montrerons la participation prémordiale des thrombocytes et des vaisseaux.

Les plaquettes, probablement à la suite d'une variation des charges électriques du milieu, s'agglomèrent et forment un thrombus que vient consolider un caillot. Ce caillot est fixé aux parois du vaisseau et lorsqu'il se rétrac-

te, les parois vasculaires se collabent. Ce sont probablement des substances d'origine plaquettaires qui causent cette vaso-constriction. Fonio a pu assimiler ce processus à une véritable ligature physiologique.

Le déficit en plaquettes dans l'hémogénie peut être de deux ordres ; on constate soit une diminution numérique, soit l'absence de la propriété fondamentale d'accollement de ces cellules.

La numération des plaquettes objectivera leur déficit numérique. Cet examen présente certaines difficultés et, surtout, est loin de donner toujours des résultats satisfaisants. On pourra utiliser soit la méthode sur lame de Fonio, soit une technique semblable à celle utilisée pour la numération des hématies, mais alors on dilue le sang dans des solutions (elles sont très nombreuses) qui lysent les globules rouges et conservent globules blancs et thrombocytes. Le prélèvement se fait à la veine (Achard et Raynaud) ou au lobule de l'oreille (Van Herveden). On fait le décompte dans la cellule d'un hématimètre. Chez un sujet normal, on trouve environ 300.000 globulins par millimètre cube.

Witts a montré (chap. V) que, lorsqu'on utilisait le venin de Vipera russellii dans la mesure de la prothrombine, il était possible d'obtenir deux temps de coagulation. L'un est trouvé en faisant coaguler le plasma par du venin pur, l'autre, plus court, en ajoutant au venin des lécithines. La différence entre ces deux temps a été appelée « lecithin difference ». Celle-ci serait inversement proportionnelle au nombre des plaquettes du sang étudié. Chez un sujet normal, la « lecithin difference » est comprise entre 12 et 16, elle est très supérieure chez les hémogènes.

L'étude de la rétraction du caillot permet de mettre en évidence le pouvoir rétractile des globulins. Associé à la numération des plaquettes, ce test montrera donc de quel type de déficit il s'agit. Si la numération des plaquettes donne un taux normal et que le caillot soit irrétractile, c'est qu'il y a déficit fonctionnel. Par contre, en cas de thrombopénie, il sera moins commode de savoir si le trouble est dû au seul manque de thrombocytes ou s'il est associé à l'absence de leur principale propriété, à moins que le caillot ne soit rétractile ce qui tranche la question en faveur d'une thrombopénie vraie.

Cette recherche de la rétractilité du caillot se fait sur du sang prélevé par ponction veineuse et conservé dans un lieu tiède. En général, la rétraction commence en moins d'une heure chez un sujet normal.

d) Les Vaisseaux :

Nous avons vu, en étudiant la formation du bouchon hémostatique que le facteur vasculaire partageait la place la plus importante avec le facteur thrombocytaire. Roskam a montré qu'en plus de la rétraction réflexe des vaisseaux autour du point lésé, il existait une opsonification des endothéliums qui augmentait la viscosité des parois capillaires et collaborait à la rétention des plaquettes.

Il est évident que l'introduction de ce facteur vasculaire entraîne la participation active du système nerveux aux phénomènes hémogéniques. L'influence de Raspoutine sur le Tzarévitch en serait un exemple historique célèbre.

De nombreux tests permettent de mettre en évidence la fragilité capillaire des hémogènes ; comme ils sont plus cliniques que biologiques, nous ne ferons que les énumérer :

— Le signe du lacet (phénomène de Rumpel-Leede) qui est dû à des hémorragies diapédétiques facilitées par la perméabilité capillaire exagérée ;

— Hémorragies après la pose de ventouses simples ;

— Aréole hémorragique après une piqûre d'aiguille ;

— Epreuve de Landis.

Un perfectionnement technique a été apporté dans la recherche du signe du lacet : on utilise un brassard de Pachon qui est laissé en place pendant 15 minutes environ. Ce brassard est relié à un manomètre à mercure, ce qui permet de déterminer la pression pour laquelle apparaissent les suffusions hémorragiques.

e) Thérapeutique Spécifique :

La thérapeutique spécifique de l'hémogénie n'existe pas. Des médications symptomatiques ont donné quelques résultats dans les purpuras thrombopéniques et la maladie de Gaucher. Ce sont : l'excitation par les rayons X de la moelle osseuse productrice des mégacaryocytes et la splénectomie, indiquée lorsqu'il y a une destruction exagérée des plaquettes alors que la moelle osseuse a une plasticité

normale. La ligature de l'artère splénique, selon Louvain, suffirait parfois.

La vitamine P pourrait, associée ou non à la vitamine C, avoir une influence favorable sur la résistance vasculaire.

CONCLUSIONS :

L'hémogénie possède un signe d'importance capitale : c'est l'allongement du temps de saignement et des signes secondaires qui permettent de distinguer trois sortes d'origine aux purpuras : les purpuras hémogéniques avec thrombopénie donc augmentation de la lécithine différence et diminution de la rétractilité du caillot; les purpuras vasculaires purs sans thrombopénie avec une lécithine différence parfois augmentée et une rétractilité du caillot normale; les purpuras mixtes qui sont les plus fréquents, dans lesquels ces différents signes sont associés.

Les temps de prothrombine et de coagulation sont théoriquement normaux.

CONCLUSIONS :

Nous résumons nos conclusions générales dans un tableau synoptique qui donne une vue d'ensemble sur les troubles de la crase sanguine, les possibilités de diagnostic et de thérapeutique. **(Tableau 11)**

Nous préférons ajouter à ce chapitre une bibliographie particulière comportant surtout des revues d'ensemble, car l'abondance des références aurait inutilement surchargé notre texte.

BIBLIOGRAPHIE

H. BENARD, P. RAMBERT, J. SHERRER, P. GALISTIN : Paris-Médical 1946, n° 48, 513.

G. CRUT : De la coagulation sanguine à l'hémostase. La Pharmacie Française 1946-1947.

P. FREDERICQ : Données récentes sur la coagulation du sang. Actualités biochimiques 1946, n° 5.

L. HEILMEYER : Précis de Physiologie Pathologique appliquée Vigot 1946.

G.-R. MINOT, C.-S. DAVIDSON, JESSICA H. LEWIS, J.-P. SOULLER, H.-J. TAGNON, F.-H.-L. TAYLOR : les proteines plas-

TABLEAU 10

Maladies	Temps de Quick	Temps de coagulation	Temps de saignement	Lécithine différence	Lyse du caillot	Rétraction du caillot	Thérapeutique spécifique
Hypoprothrombinémie .	↗	normal ou ↗	normal	normale	normale	normale	vitamine K
Hémophilie	normal	↗	normal	normale	retardée ou absente	normale	globuline anti-hémophilique thrombine ?
Hémogénie thrombopénique	normal	normal	↗	↗	normale	retardée ou absente	? Splénectomie
Purpura vasculaire pur (plaquettes normales)	normal	normal	↗	↗ ou normale	normale	normale	vitamine P
Hémogénie + Hémophilie	normal	↗	↗	↗	retardée ou absente	retardée ou absente	Traitement de l'hémophilie

matiques et le problème de l'hémophilie. Nouveautés hématologiques américaines, Doin 1946.

A.-J. QUICK : Etat actuel de nos connaissances sur la prothrombine. Nouveautés hématologiques américaines, Doin 1946.

WEIL P.-Emile : L'Hémophilie. Masson 1946.
Hématologie. Masson 1946.

P. BOULANGER — La « vitamine P » : action vitaminique des dérivés benzopyraniques.

— Exposés annuels de biochimie médicale. Masson 1944.

CONCLUSIONS

Au cours d'études sur la prothrombine, nous avons été amené à envisager les différentes théories de la coagulation.

Pour les uns, la coagulation n'est que le premier temps de la fibrinolyse et les enzymes coagulants sont en même temps protéolytiques. Pour les autres, il existe deux groupes de ferments, les uns coagulants, les autres protéolytiques, sur un même support protéinique.

— Dans notre premier chapitre, nous avons exposé les théories modernes de la coagulation et montré la prévalence de la seconde théorie. Nous avons résumé en un tableau les grandes phases de la coagulation.

Dans un premier temps, la rupture de l'équilibre existant normalement dans le sang circulant entre les inhibiteurs et les activateurs de la coagulation amène la transformation de la prothrombine en thrombine. Dans un deuxième temps, la thrombine provoque le passage du fibrinogène à la fibrine.

— Nous avons décrit les différentes techniques proposées pour doser la prothrombine et exposé notre expérimentation personnelle ainsi que la technique adoptée. Celle-ci est du type de celle de Quick avec plasma déprothrombiné par le sulfate de baryum.

— Reprenant les recherches de Quick, nous avons pu séparer le composant A, qui disparaît seul par conservation, du composant B, stable in-vitro. Nous avons vérifié que le facteur B, par contre, est seul abaissé dans les hypoprothrombinémies. Etudiant le processus qui permet de rétablir un taux de prothrombine normal en mélangeant un plasma conservé à un plasma hypoprothrombinémique, nous avons conclu que le facteur B, en excès sur le facteur A dans le plasma conservé, s'unissait au facteur A, en excès sur le facteur B dans le plasma hypoprothrombinémique. Enfin, nous avons montré que pour obtenir un temps de Quick optimum avec des plasmas hypoprothrombinémiques d'origine hépatique ou avec des plasmas con-

servés, la quantité de chlorure de calcium devait rester dans des limites étroitement définies, en opposition avec ce que nous avions constaté pour des plasmas normaux.

— Nous avons montré l'existence d'hyperprothrombinémies physiologiques et pathologiques bien que Quick mette leur réalité en doute. Dans nos expériences, nous avons mis en évidence l'augmentation du facteur B, alors que dans les conditions où nous nous trouvions le fibrinogène ne pouvait être en excès et par conséquent intervenir, comme l'ont prétendu certains. Nous avons alors proposé un schéma montrant les varitions relatives des facteurs A et B dans les plasmas normaux, hyperprothrombinémiques, hypoprothrombinémiques et conservés.

— Reprenant les recherches déjà anciennes sur l'action coagulante de certaines protéases, nous étudions la méthode proposée par Witts et Hobson pour la mesure de la prothrombine et l'appréciation indirecte des troubles de la crase sanguine (lecithin-difference).

Cherchant à remplacer le venin de Vipera russellii utilisé par Witts par de la trypsine, nous étudions la coagulation produite par ce ferment en présence de calcium.

Les résultats que nous obtenons ne nous permettent pas de présenter une méthode pratiquement utilisable. Nous arrivons à la conclusion que le mélange trypsine-lécithine joue le rôle d'une thromboplastine identique à celle utilisée par Quick dans sa méthode et qui est préparée à partir de cerveau de lapin. Enfin, nous considérons que la lécithine d'œuf pourrait agir comme un inhibiteur de la protéolyse trypsique.

Dans un dernier chapitre, nous montrons l'application clinique de notre travail en étudiant rapidement les troubles de la crase sanguine, leur mode de détection et leur thérapeutique spécifique ; nous résumons, dans un tableau les divers examens biologiques permettant le diagnostic différentiel entre l'hypoprothrombinémie, l'hémophilie et les syndromes hémogéniques.

⁂

Nous espérons qu'ainsi, notre travail pourra être utile aussi bien à ceux intéressés par les problèmes biologiques qu'aux cliniciens qui veulent bien comprendre mais surtout guérir.

BIBLIOGRAPHIE

1. A.-J. ALMQUIST et KLOSE. — The antihemorrhagic activity of certain naphtoquinons. **J^l Am. Chem. Soc.,** 1939-7-1923.
2. K. APITZ. — Pathologishe Physiologie der Blutgerrinung : **Kolloid.-Z. Bd,** 1938, p. 85.
3. — **Z. exper. Med.** 1937-101-552.
4. — **Z. exper. Med.** 1937-102-202.
5. M. ARTHUS. — **Arch. Int. Physiologie,** 1920-15-203.
6. — Etude sur la production de fibrin ferment dans le sang extrait des vaisseaux. **C.R. Soc. Biol.** 1901-53-203.
7. T. ASTRUP. — Blutgerrinung und Autokatalyse. **Enzymologia,** 1941-9-337.
8. — Biochemestry of Blood coagulation **Acta Phys. Scand.** 1944-7. Suppl. XXI., p. 1.
9. — **Enzymologia,** 1938-5-119.
10. — T. ASTRUP et S. DARLING. — **Acta Phys. Scand.** 1942-4-293
11. — **Acta Phys. Scand.** 1943-5-97
12. — **Acta Phys. Scand.** 1943-5-135
13. V.-T. AUSTIN et H. QUASLER. — Idiopathic Hypoprothrombinemia. Report of a case. **Am. J^l Med. Sci.** 1945-210-491.
14. H. BENARD, P. RAMBERT, J. SCHERRER, P. GALISTIN. — **Paris Médical,** 1946, n° 48, 513.
15. I. BERTRAND. — Le Thrombogramme conçu comme courbe statistique de fréquences cumulées. **C.R. Soc. Biol.** 1945-139-1083.
16. I. BERTRAND et D. QUIVY. — La coagulation sanguine correspond-elle à un processus autocatalytique ? **C.R. Ac. Sc.** 1946-223-174.
17. — Etude analytique des thrombogrammes, l'autocatalyse dans la coagulation plasmatique. **Rev. d'Hématologie** 1946-1-278.
18. S. BLACK, R.-S. OVERMAN, C.A. LEVEHJEM, K.-D. LINK. — The effect of sulfaguanidine on rat growth and plasma prothrombin. **J^l Biol. Chem.** 1942-145-137.
19. J. BORDET. — **Ann. Inst. Pasteur.** 1920-34-561.
20. J. BORDET et L. DELANGE. — La coagulation et la génèse de la thrombine. **Ann. Inst. Pasteur.** 1913-26-657 et 737.
21. — **C.R. Soc. Biol.** 1913-75-169.
22. — **Ann. Inst. Pasteur,** 1913-27-341.
23. J. BORDET et O. GENGOU. — Recherches sur la coagulation du sang : sur le pouvoir coagulant du sérum. **Ann. Inst. Pasteur,** 1904-18-98.

24. P. CHEVALLIER, A. FIEHRER, M. GUILLOT. — Méthode photographique d'étude de la coagulation du plasma in-vitro. **Le Sang,** 1946-17-230.
25. L.-R. CHRISTENSEN et L.-R. JONES. — **Proc. Soc. Exp. Biol and Med.** 1939-42-569.
26. COHN. — **J^l Clin. Invest.** 1944-23-417.
27. — **J^l Clin. Invest.** 1945-29-662.
28. B.-J. COLLINWOOD et M.-T. MAC MAHON. — **J^l Physiol.** 1912-45-119.
29. G. CRUT. — **C.R. Acad. Sc.** 1939-208-1937.
30. — De la coagulation sanguine à l'hémostase. **La Pharmacie Française** 1946-1947.
31. H.-H. DALE et G.-S. WALPOLE. — **Bioch. J^l.** 1916-10-331.
32. U. DALE-IRISH et L.-B. JACQUES. — The effect of dicumarol upon plasma fibrinogen. **Am. J^l Physiol.** 1945-143-101.
33. H. DAM. — **Biochem. Ztschr.** 1929-215-475.
34. W. DIEBOLD et L. JUHLING. — **Bioch. Z,** 1938-296-389.
35. S.R. DOUGLAS et L. COLEBROOK. — **The Lancet** 1916-180.
36. H. EAGLE. — **J. Gen. Physiol.,** 1935-18-457.
37. — The role of prothrombin and platelets in the formation of thrombin. **J. Gen. Physiol.** 1935-18-531.
38. H. EAGLE et J.-P. BEAUMBERGER. — **J. Gen. Physiol.** 1935-18-809.
39. H. EAGLE et T. HARRIS. — **J. Gen. Physiol.** 1937-20-543.
40. G. EDSALL. — **Am. J^l Physiol,** 1941-134-609.
41. R. FEISSLY. — **Helvet. Med. Acta.** 1945-12-215.
42. — Sur la thrombokinase plasmatique. **Helvet. Med. Acta,** 1943-10-3.
43. — **J^l Suisse Méd.** 1945, n° 32, 696.
44. — **J^l Suisse Méd.** 1942-72-516.
45. — **J^l Suisse Méd.** 1943-73-925.
46. J.-H. FERGUSON. —**Science,** 1943-97-319.
47. J.-H. FERGUSON et B.-N. ERICKSON. — **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,** 1939-40-425.
48. — **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1939-40-625.
49. — **Am. J^l Physiol.,** 1939-126-661.
50. F. FERRANTI. — **Boll. Ist. Sierot. Milan,** 1938-17-653.
51. J.-B. FIELD. — Hypoprothrombinemia induced in suckling rats by feeding 3-3-methylen bis 4 hydroxycoumarine and acetyl salicylic acid to their mothers. **Am. J^l Physio.,** 1945-143-238.
52. A. FISHER. — **Bioch. Z.,** 1935-278-133.
53. A. FISHER et E.-HECHT. — Nature chimique du facteur lipoïdique au cours de la coagulation du sang. **Biochem Z.,** 1934-269-115.
54. P. FREDERICQ. — **Arch. Int. Physio.,** 1942-52-73.
55. — Données récentes sur la coagulation du sang. **Actualités Biochimiques,** 1946-5.
55 bis H.-J. FUCHS. — Wichtige methodische Einzelheiten bie Blutgerinnung Suntersuchunger Sowie eine Isolierungs methodik des physiologischen gerinnung-shemmenden Fak-

tors (Antipothrombin) aus Blut und Gewehe. **Biochem. Ztschr.** 1930-222-470.
56. M. GRAFFARD. — Antifibrinolysine streptoccique. **Rev. Belge Sci. Med.,** 1945-16-230.
57. A. GRATIA. — **Bull. Soc. roy. Sci. Med. Nat. Bruxelles,** 1913-128-132.
58. W.-N. HEARD. — **J Physio,** 1917-51-294.
59. L. HEILMEYER. — **Précis de Physio. Path. Appliq.,** Vigot 1946
60. R.-S. HIROSE. — **Am. J Physio.,** 1934-107-693.
61. A. HOUGARDY. — **Arch. Int. Physio.,** 1933-36-92.
62. S. HUDEMANN. — **Kolloïde Ztschr.,** 1940-92-189.
63. L.-B. JACQUES. — **Bioch. J** 1938-32-1181.
64. — A quantitative method of assay for thrombin and prothrombin. **J Physio.** 1941-100-275.
65. L.-B. JACQUES et A.-P. DUNLOP. — The effect of calcium concentration on the prothrombin time of dogs treated with dicumarol. **Am. J Physio.,** 1945-143-355.
66. A.-M. JOURDAIN. — **Thèse Médecine Bordeaux,** 1947.
67. O. KIDERLEN. — **Inaug. Diss.** Würzburg 1937.
68. K. LAKI. — Die autokatalitische Thrombinbildung un das Hamophilie Problem. **Schweiz. Med. Worch.,** 1944-74-13.
69. H. LAVERGNE. — Valeur de quelques techniques de dosage de la prothrombine. **Paris Médical,** 1942-491.
70. J.-P. LAVILLE. — **Thèse Médecine,** Bordeaux 1946.
71. K. LEENGGENHAGER. — **Helv. Méd. Acta,** 1940-262.
72. — Quelques éclaircissements sur le problème de la coagulation du sang. **Schweiz. Med. Woch.,** 1946-76-410.
73. — **Schweiz Med. Wich.,** 1935-278.
74. C. LIAN, R. SASSIER, G. HURET. — La coagulation du sang, étude thrombographique. **Presse Médicale,** 1942-491.
75. C. LIAN, P. FRUMUSAN, R. SASSIER. — Méthode optique pour l'étude de la coagulation sanguine. **Le Sang,** 1933-13-817.
76. K.-P. LINK, R.-S. OVERMAN, W.-R. SULLIVAN, C.-F. HUBNER, L.-L. SCHEEL. — **J Bioc Chem.,** 1943-147-463.
77. G.-I. VAN LOOKEREN CONPAGNE. — Wschr. Kindergeneesk, 1938-8-5.
78. R.-G. MAC FARLANE, J.-W. TREVAN, A.-M.-P. ATTWOOD. — **J Physio.,** 1941-99-7.
79. R.-G. MAC FARLANE. — **Proc. roy. Soc. Med.** 1942-35-410.
80. J. MELLENBY. — **Proc. roy. Soc. London,** 1931-107-271.
81. P. MEUNIER. — Sur la cinétique de la coagulation plasmatique. Son étude photométrique. **C.R. Acad. Sci.** 1940-211-668.
82. — La coagulation plasmatique étudiée à l'électrophotomètre. **Ann. Biol. Clin.,** 1943-1-155.
83. P. MEUNIER, A. DREYFUSS. — Analyse photométrique de la coagulation plasmatique. Applications pratiques. **Bull. Soc. Chim. Bio.,** 1940-22-529.
84. H. MILSTONE. — **J Gen. Physio.,** 1942-215-679.
85. DE MOMMAERTS. — **J Physio.,** 1945-107-20.
86. F.-D. MURPHY et J.-K. CLARK. — Idiopathic hypoprothrombinemia. **Am. J Med. Sci.,** 1944-207-77.

87. G.-A. NITSHE Jr, H.-L.-N. GERARDE, H.-F. DEUTSCH. — Prothrombin time Studies on Human beings and experimental animals. **J^l Lab. Clin. Med.**, 1947-32-410.
88. P. NOLF. — **Arch. Inter. Pharmacologie et Thérap.**, 1945-70-5
89. — **Arch. Inter. Pharmacologie et Thérap.**, 1945-70-323
89 bis — **Arch. Inter. Pharmacologie et Thérap.**, 1945-71-1
90. — **C.R. Soc. Biol.**, 1921-94-840.
91. — **Arch. Int. Physio.**, 1921-16-374.
92. — Eine nue Theorie der Blutgerrinug. **Ergeb. inn. Med.** 1913-10-275.
93. J.-H. NORTHROP et M. KUNITZ. — **J^l Gen. Physio.**, 1933-16-314
94. NYONS. — In. G. Crut. La Pharmacie Française, Décemb. 1946
95. K.-K. NYGAARD. — Hemorrhagic diseases. **St-Louis** 1941.
95 bis. W.-J. O'NEAL et C.R. LAM. — Experiments ou components A. and B (Quick) of prothrombin. **Am. J^l Med. Sci.**, 1945-210-181.
96. C. OPPENHEIMER. — Die Fermente und ihre Wirkungen. **Suppl. den Haag.**, 1937-16.
97. A.-J. PATECK et R.-P. SETSON. — **J^l Clin. Invest.** 1936-15 531.
98. A.-J. PATECK et F.-H.-L. TAYLOR. — **J^l Clin. Invest.** 1937-16-113.
99. PERRIER. — **Thèse Médecine,** Bordeaux 1942.
100. PORTES et VARAGOT. — Sur le taux de prothrombine dans le sang maternel et dans le sang fœtal au moment de l'accouchement. **C.R. Ac. Sci.**, 1941-212-177.
101. A.-K. PRESNELL. — **Am. J^l Physio.**, 1936-114-282.
102. A.-J. QUICK. — **Am. J^l Clin. Path.**, 1940-10 220.
103. — **Am. J^l Physio.**, 1940-131-455.
104. — **Am. J^l Physio.**, 1943-140-212.
105. — **Le Sang,** 1946-5-281.
106. — **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1946 62-249.
107. — Effect of synthetic vitamine K and of quinine sulfate on the prothrombin level. **J^l Lab. Clin. Med.**, 1946.
108. — **J^l Lab. Clin. Med.**, 1947.
109. A.-J. QUICK et LEU. — Quantitative determination of prothrombin. **J^l Biol. Chem.**, 1937-119-110.
110. D. QUIVY. — Evaluation de l'Héparine in-vitro. **Thèse Science,** Paris 1945.
111. W.-K. RIEBEN. — Etude quantitative de la prothrombine plasmatique. **Schweiz Med. Wsch.**, 1946-76-725.
111 bis. P. RONDONI. — Influence des phosphatides sur les enzymes protéolytiques. **Zschr. Physio. Chem.**, 1932-207-103.
112. M. ROSENNMANN. — **Bioch. Z.**, 1937-290-214.
113. H.-A. SALLES. — Techniques de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. **Thèse Médecine,** Bordeaux 1946.
114. W.-H. SEEGERS. — **J^l Bio. Chem.**, 1940-136-103.
115. W.-H. SEEGERS, E.-C. LOOMIS, J.-M. VANDENBELT. — Preparation of prothrombin products. Isolation of prothrombin and its products. **Arch. Bioch.**, 1945-6-85.
116. — Electrophoresis of purified prothrombin. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 1944-56-70.

117. S. SHAPIRO, M.-H. REDISH et H.-A. CAMPBELL. — Prothrombine Studies III. Effect of Vitamine K on hypoprothrombinemia induced by dicumarol in man. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,** 1943-52-12.
118. SMITH, ZIFFREN, OWEN et OFFMANN. — Clinical and experimental Studies on Vitamine K. **J[1] Am. Med. Ass.,** 1939-380.
119. J.-P. SOULIER. — La prothrombine et la vitamine K chez l'enfant. **Thèse Médecine,** Paris 1944.
120. A. STUDER. — Contribution à l'étude de la thrombokinase. Jubilee volume Emil Barell, 1946-229.
121. C.-A. TANTURI et R.-F. BANFI. — An improved method for the determination of plasma prothrombin. **J[1] of Lab. Clin. Med.,** 1946-31-703.
122. THODARSON, BEGTRUP et HANSEN. — **Acta Med. Scand.,** 1943-112-459.
123. L.-M. TOCANTINS. — **J[1] Clin. Invest.,** 1942-21-646.
124. — **Am. J[1] Physio.,** 1943-139-265.
125. — A. TZANCK et M. BURSTEIN. — Recherches sur la coagulation sanguine. **Rev. Hemat.,** 1946-1-35.
126. A. TZANCK et J.-P. SOULIER. — **Sem. Hop. Paris** 1947.
126 bis. — L. VELLUZ. — Recherches sur l'action inhibitrice des acides gras et en particulier des acides gras non saturés sur les phénomènes diastasiques. **C.R. Soc. Chim. Biol.,** 1927-9-483.
127. E. WALDSHMITD, LEITZ, P. STADLER et F. STEIGERWALD. — **Zschr. Physio. Chem.,** 1928-183-39.
128. WARNER, BRINKHOUS et SMITH. — A quantitative study of blood clotting fluctuation under experimental conditions. **Am. J[1] Physio.,** 1936-114-667.
129. P. Emile WEIL. — Hematologie. **Masson éditeur** 1946.
130. F. WINDERBAUER et C. REICHEL. — **Klin. Wschr.** 1942-524.
131. L.-J. WITTS. — Disturbance in the coagulation of blood. **Glasgow Med. J[1],** 1942-19-57.
132. L.-J. WITTS et F.-C.-G. HOBSON. — **Brit. Med. J[1],** 1940, n° 2, 862
133. — **Brit. Med. J[1],** 1942, n° 1, 575.
134. E. WOHLISH. — **Bioch. Z.,** 1940-304-326.
135. — **Ergeb. Physio.,** 1929-28-443.
136. — **Ergeb. Physio.,** 1940-43-174.
137. E. WOHLISH et L. JUHLING. — **Bioch. Z.,** 1938-247-359.
138. — **Naturwiss.** 1938-26-548.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes ; si je le viole et que je me parjure, puissè-je avoir un sort contraire.

Le Doyen,
DUPÉRIÉ.

Le Président du Jury,
BONNIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,
Bordeaux, le 7 Juillet 1947

Le Recteur,
A. MARCHAUD.